

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公表特許公報 (A)

(11)特許出願公表番号

特表平7-504680

第3部門第2区分

(43)公表日 平成7年(1995)5月25日

(51) Int.Cl. [*]	識別記号	序内整理番号	F I
A 6 1 K 38/00	A B J		
A 6 1 C 8/00	Z	7108-4C	
A 6 1 L 27/00	F	7019-4C	
		8314-4C	A 6 1 K 37/ 02 A B J

審査請求 有 予備審査請求 有 (全 29 頁)

(21)出願番号 特願平6-501663
(86) (22)出願日 平成5年(1993)6月8日
(85)翻訳文提出日 平成6年(1994)12月16日
(86)国際出願番号 PCT/US93/05446
(87)国際公開番号 WO93/25246
(87)国際公開日 平成5年(1993)12月23日
(31)優先権主張番号 901, 703
(32)優先日 1992年6月16日
(33)優先権主張国 米国(US)
(81)指定国 E P (AT, BE, CH, DE,
DK, ES, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE), AU, CA, JP

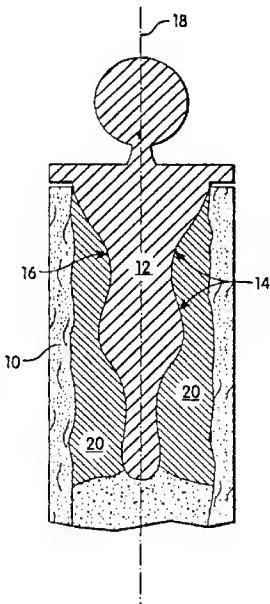
(71)出願人 ストライカー コーポレイション
アメリカ合衆国 マサチューセッツ
01760-0053, ネイティック, ウスター
ロード 594, スイート 201, ワン ア
ップル ヒル
(72)発明者 ルーガー, ディビッド シー。
アメリカ合衆国 マサチューセッツ
01748, ホブキントン, ダウニー ストリ
ート 19
(74)代理人 弁理士 山本 秀策

最終頁に続く

(54)【発明の名称】 増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

(57)【要約】

実質的に純粹な骨形成タンパク質でコーティングされた補綴物を含有する補綴デバイスが開示される。インビボにおいて補綴デバイスを生物学的に固定する方法もまた開示される。この方法では、補綴物は、実質的に純粹な骨形成タンパク質に接触させて個体に移植され、接合部位でのこの補綴物と本来の骨との間の接着強度を増強する。



特表平7-504680 (2)

の組み合わせをさらに含む、請求項1または2に記載の方法。

請求の範囲

1. 移植可能な補綴デバイスのインビボでの骨統合を促進する方法であって、以下の工程を包含する、方法：

該補綴デバイスの表面上に実質的に純粋な骨形成タンパク質を提供する工程；および

該デバイスを哺乳類に特定の部位で移植する工程であって、ここで、該部位で、骨組織と該表面とが、該組織と該デバイスとの間で骨組織の成長を増強させるのに充分な時間、少なくとも部分的に接触されて維持される、工程。

2. 哺乳類の骨格系を修復する方法であって、骨組織に接觸させて補綴デバイスを外科的に移植する工程、および該デバイスおよび該骨組織を、重量を支える骨成分を形成するように組み込む工程を包含し、以下の改良点を包含する、方法：

実質的に純粋な骨形成タンパク質を該補綴デバイスの表面上に、その移植の前に提供する工程であって、それにより該デバイスへの骨組織の成長の増強を促進し、そして該骨と該デバイスとの間の接合部の引っ張り強度を改良する、工程。

3. 前記補綴デバイスの表面が、ヒドロキシアバタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酔酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、またはそれら

ブユニットの1つが、ストリンジエントなハイブリダイゼーション条件下でOPS(配列番号1の335残基から431残基)をコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を有し、該サブユニットを含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類で軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

8. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖が、配列番号1の335～431残基(OPS)を含むアミノ酸配列と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項1または2に記載の方法。

9. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖のアミノ酸配列が、OPSを含むアミノ酸配列と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項8に記載の方法。

10. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖のアミノ酸配列が、配列番号1の335-431残基(OPS)を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項9に記載の方法。

11. 前記骨形成タンパク質が、ホモダイマーである骨形

4. 前記補綴デバイスが、有孔性の金属材料を含む、請求項1または2に記載の方法。

5. 前記骨形成タンパク質が骨形成活性ダイマータンパク質である、請求項1または2に記載の方法。

6. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性ダイマータンパク質であり、そして1対のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合されると、哺乳類に移植されるときに該表面に関連して軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有するような、配列番号1の335残基から431残基までの配列(OPS)に十分に重複しているアミノ酸配列を有する、請求項1または2に記載の方法。

7. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性ダイマータンパク質である、請求項1または2に記載の方法であって、以下により特徴づけられる、方法：

ここで、該タンパク質が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合された1対の酸化サブユニットを含み、該サ

成に活性なダイマータンパク質であり、ここで、両鎖はOPS(配列番号1の335-431残基)のアミノ酸配列を含む、請求項9に記載の方法。

12. 前記骨形成に活性なダイマータンパク質の両鎖が、配列番号1の293-431残基(OPI-18Ser)のアミノ酸配列を含む、請求項11に記載の方法。

13. 骨組織に近接した移植のために有孔または無孔の表面領域を有する堅い補綴インプラントを含む、哺乳類の骨の欠損、損傷、または異常を修復するための改良補綴デバイスであって、以下を含むデバイス：

該表面への骨組織の成長の増強を促進するのに充分な量で、該表面領域に配置された実質的に純粋な骨形成に活性な骨形成タンパク質。

14. 前記補綴デバイスの表面が、さらにヒドロキシアバタイトを含む、請求項13に記載のデバイス。

15. 前記骨形成タンパク質が骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項13に記載のデバイス。

16. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性ダイマータンパク質で

あり、そして1対のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようジスルフィド結合されると、哺乳類に移植されるときに前記表面に関連して軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有するような、配列番号1の335残基から431残基までの配列(OPS)に十分に重複しているアミノ酸配列を有する、請求項13に記載のデバイス。

17. 前記骨形成タンパク質は、骨形成に活性なダイマータンパク質であり、ここで、該タンパク質が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合された1対の酸化サブユニットを含み、該サブユニットの1つが、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でOPS(配列番号1の335残基から431残基)をコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を有し、該サブユニットを含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類で軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有することにより特徴づけられる、請求項13に記載のデバイス。

18. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖が、配列番号1の335～431残基(OPS)を含むアミノ酸配列と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求

項13に記載のデバイス。

19. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖のアミノ酸配列が、OPS(配列番号1の335-431残基)を含むアミノ酸配列と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項18に記載のデバイス。

20. 前記骨形成タンパク質が、該タンパク質の各鎖のアミノ酸配列が、配列番号1の335-431残基(OPS)を含むことで特徴づけられる、骨形成に活性なダイマータンパク質である、請求項19に記載のデバイス。

21. 前記骨形成タンパク質が、ホモダイマーである骨形成に活性なダイマータンパク質であり、ここで、両鎖はOPS(配列番号1の335-431残基)のアミノ酸配列を含む、請求項19に記載のデバイス。

22. 前記骨形成に活性なダイマータンパク質の両鎖が、配列番号1の293-431残基(OPI-18Ser)のアミノ酸配列を含む、請求項21に記載のデバイス。

23. 前記補綴物が、有孔性の金属材料を含む、請求項13に記載のデバイス。

24. 前記補綴物が、その縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する、開口部への挿入のための移植可能な不規則輪郭部分を備えている、請求項13に記載のデバイス。

25. 歯科用インプラントを含む、請求項24に記載のデバイス。

26. 補綴デバイスの、骨の開口部へのインピボでの骨統合を促進するための方法であって、以下の工程を包含する、方法：

移植可能な不規則輪郭部分を有するデバイスを該開口部への挿入のために提供する工程であって、該輪郭部分はその縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する、工程；および

該開口部へ、該補綴デバイスの該輪郭部分、およびマトリックスと組み合わせた実質的に純粋な骨形成タンパク質骨成長組成物を移植する工程であって、該組成物は、該くぼみでの骨成長、該骨と該補綴デバイスとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、工程。

27. 前記不規則輪郭部分が、有孔性金属材を含む、請求項26に記載の方法。

28. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項27に記載の方法。

29. 骨の開口部への補綴物のインピボでの骨統合を促進するためのデバイスであって、以下を含むデバイス：

該開口部への挿入のための不規則輪郭部分を有する堅い補綴インプラントであって、該輪郭部分は、その縦軸に垂直方向に複数のくぼみを有する、インプラント；およびマトリックス材と組み合わせて実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む骨成長組成物であって、該組成物は、該くぼみでの骨の成長、該骨と該補綴デバイスとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、組成物；

30. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項29に記載のデバイス。

31. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項30に記載のデバイス。

32. 前記マトリックス材が、ヒドロキシアバタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のポリマーまたはコポリマー、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、脱塩されグアニジン抽出された骨、および

明細書

増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

それらの組み合わせからなる群から選択される、請求項29に記載のデバイス。

3.3. 歯科用インプラントを含む、請求項29に記載のデバイス。

3.4. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性ダイマータンパク質であり、そして1対のポリペプチド鎖を含み、各ポリペプチド鎖は、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合されるとき、哺乳類に移植されるときに前記補綴物の前記不規則輪郭部分に関連して軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有するような、配列番号1の335残基から431残基までの配列(OPS)に十分に重複しているアミノ酸配列を有する、請求項29に記載のデバイス。

関連出願の参照

本出願は、1992年2月21日に出願された係属中の米国特許出願第07/841,646号の一部継続出願である。この一部継続出願は、以下の米国特許出願の一部継続出願である：1) 1992年1月28日に出願された第07/827,052号、これは1988年4月8日に出願された米国特許出願第07/179,406号（現在は米国特許第4,968,590号）の分割出願である；2) 1990年9月7日に出願された第07/579,865号、これは米国特許出願第07/179,406号の分割出願である；3) 1990年12月4日に出願された第07/621,849号、1988年8月15日に出願された米国特許出願第07/232,630号（現在は放棄）の分割出願であり、後者の出願は第07/179,406号の一部継続出願であった；4) 1990年12月4日に出願された第07/621,988号、これは1989年2月23日に出願された米国特許出願第07/315,342号（現在は米国特許第5,011,691号）の分割出願であり、第07/232,630号の一部継続出願である；5) 1991年12月20日に出願された第07/810,560号、これは1991年2月22日に出願された米国特許出願第07/660,162号（現在は放棄）の継続出願であり、この第07/660,162号は1989年10月17日に出願された第07/422,699号（現在は放棄）の一部継続出願であった（第07/422,699号は第07/315,342号の一部継続出願であった）；6) 1990年8月20日に出願

された第07/569,920号（現在は放棄）、これは第07/422,699号および第07/483,913号（後者は1989年10月17日に出願された第07/422,613号（現在は米国特許第4,975,526号）の一部継続出願および第07/315,342号の一部継続出願である）の一部継続出願であった；7) 1990年10月18日に出願された第07/600,024号、これは第07/569,920号の一部継続出願である；B) 1990年10月18日に出願された第07/599,543号、これは第07/569,920号の一部継続出願である；9) 1990年11月21日に出願された第07/616,374号、これは第07/422,613号の分割出願である；および10) 1990年2月22日に出願された第07/483,913号。

発明の背景

骨格組織の再形成は、骨マトリックス中に天然に存在する特異的タンパク質因子により調節されると考えられている。骨が損傷を受けると、これらの因子が細胞を刺激して、損失したまたは損傷を受けた骨の代わりとなるか、またはそのような骨を修復する、新たな軟骨組織および骨組織を形成する。骨の再形成は、補綴インプラントが、股関節部置換におけるように、病んでいる骨の代わりとなるために結合セメントを用いずに用いられる場合、特に重要である。これらの場合、補綴物と本来の骨との間での堅い骨が形成されることが非常に重要であり、成功するかどうかは接触面でのインプラントと骨組織との間の相互作用に依存する。

骨治療は、1つまたはそれ以上の骨形成タンパク質により刺激され得る。この骨形成タンパク質は、軟骨内骨形成を生じる細胞事象の発達カスケードを誘導し得る。骨形成を刺激するタンパク質は、文献では、骨形態形成タンパク質、骨誘導タンパク質、骨形成タンパク質、オステオゲニン(osteogenin)、または骨誘導タンパク質(osteoinductive proteins)と称されている。

米国特許第4,968,590号（1990年11月6日）は、マトリックスと関連して哺乳類に移植されたとき哺乳類での軟骨内骨形成を誘導し得、そして移植マトリックス25mgあたり少なくとも約25～50ngの半最大活性を有する、骨由来の「実質的に純粋な」骨形成タンパク質の精製を開示している。統いて、このタンパク質の高活性（例えば、移植マトリックス1mgあたり骨形成タンパク質0.8～1.0ng）が示され、これは米国特許第5,011,691号に開示されている。この特許はまた、骨形成タンパク質をコードする遺伝子を同定するのに有用なコンセンサスDNA配列プローブ、およびコンセンサスプローブを用いて同定された骨形成タンパク質をコードする多数のヒト遺伝子を開示しており、本明細書中で「OP1」（骨形成タンパク質-1）と称せられる、それ以前には同定されていなかった遺伝子を含む。このコンセンサスプローブはまた、国際出願第PCT/US87/01537号において、8MP-2クラスIおよびクラスII（それぞれ「BMP2」および「8MP4」）およびBMP3と称される配列に対応するDNA配列を同定した。これらの配列をコードする骨形

成タンパク質は、それぞれ本明細書中で「CBMP2A」、「CBMP2B」、および「CBMP3」と称される。米国特許第5,011,691号はまた、骨形成活性に必要とされる共通の「活性領域」を規定し、マトリックスと関連して哺乳類における軟骨または骨の形成を誘導し得る、いくつかの新規な生合成構築物を記載した。

これらおよび他の研究者らは、軟骨内骨形成のための骨形成因子の移植の成功には、上記タンパク質と、適用する位置においてそのタンパク質を維持する適切なキャリア材またはマトリックスとが密接に関連していることが必要とされることを述べている。粉碎した骨の脱塩、グアニジン抽出、および脱脂後に残った骨コラーゲン粒子が、この目的のために用いられている。多くの骨誘導タンパク質は異種において有用である。しかし、脱塩し、脱脂し、グアニジン抽出した異種の個体のコラーゲンマトリックスは、典型的にはインビポでの骨誘導を阻害した。SampathおよびReddi (1983) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 80:6591-6594。しかし、最近Sampathらは、脱塩しグアニジン抽出した骨粉末を処理して異種のインプラントに有用なマトリックスをつくる方法を記載した。例えば、米国特許第4,975,526号(1990年12月4日)を参照のこと。他の有用なマトリックス材としては、例えば、コラーゲン；グリコール酸、乳酸、および酪酸のホモポリマーまたはコポリマー、それらの誘導体を含む；およびセラミック(例えばヒドロキシアバタイト、リン酸三カルシウムおよび

他のリン酸カルシウム)が挙げられる。これらのマトリックス材の組み合わせもまた有用であり得る。

整形用インプラントは、従来では骨セメントを用いて天然骨に付着されていた。より最近では、無セメント補綴物が用いられており、ここで、天然骨と接触する補綴物の一部が有孔性の材料でコーティングされている。W. Spector, *J. Art. Horoplast.*, 2(2):163-176 (1987); およびCookら、*Clin. Orthoped. and Rel. Res.*, 232:225-243 (1988)。セメントによらない固定は、骨統合(osseointegration)が達成されるとき補綴物の生物学的固定がより強くなるので好ましい。有孔性コーティングは報告されているように骨の内方成長(ingrowth)を刺激し、これにより補綴物の生物学的固定を増強する。しかし、有孔性コーティング補綴物にはいくつかの問題点がある。例えば、デバイスの最初の機械的安定を確実にする骨との密接な適合を得るために補綴物の慎重な選択が必要であり、そして骨内方成長を促進する最初のインプラント-骨接触を確実にするための手術上の精度が要求される。有孔性コーティングインプラントは、いくつかの場合では骨の内方成長を生じない。例えば、膝部代替において用いられる有孔性コーティング脛骨板の場合である。顕著な骨内方成長をもたらし、そして結合部位で天然骨と強い結合を生じる補綴インプラントは、非常に価値がある。

歯科用インプラントのような包埋インプラントの固定に關し、当該分野の現況は充足されていない。典型的には、歯科

用インプラント固定には、歯槽を埋めるための骨の歯槽隙への内方成長による補綴物移植のために、まず個体の頸骨中で歯槽を調製する必要がある。この準備工程は、それだけで完成するまで数カ月を費やし得る。次いで補綴物を歯槽中の新たな骨に貫通し、新たな骨を、歯槽中に包埋したインプラントの真直部分の周囲に再成長させる。従って、抜歯と補綴物の充填との間の期間が8カ月にもなり得る。さらに、補綴物の骨への接着は、骨の完全性を損傷し得る。骨統合を改良し、固定の時間および影響を減少させる補綴歯科用インプラントが好都合である。

発明の要旨

本発明は、補綴物の移植部位での骨の成長を増強し、この補綴物と本来の骨との間の結合を形成する方法に関する。本明細書中で用いられるように、補綴物は、生体の欠損部を供給する人工部分の付加を意味すると理解される。本発明の方法は、実質的に純粋な骨形成タンパク質で骨と接触される補綴物の全体または一部をコーティングすること、またはそうでなければ接触させることを包含する。この補綴物は、まず骨形成タンパク質でコーティングされて、次いで、特定の部位で、個体中に移植される。ここで、この部位は骨組織および補綴物の表面が、組織と移植された補綴物との間で骨組織の成長を増強させるのに充分な時間、非常に接近して維持される部位である。あるいは、まず、移植の部位が実質的に純

粹な骨形成タンパク質で処理され得、次いで、補綴物が処理部位で移植され得る。この処理部位は、補綴物の全体および一部がその部位で骨形成タンパク質と接触され、そして補綴物、骨形成タンパク質、および本来の骨が、組織と補綴物との間で骨組織の成長を増強させるのに充分な時間、互に非常に接近して維持される部位である。移植された補綴物に結合した骨形成タンパク質は、補綴物の周囲の骨形成を刺激し、そして補綴物と本来の骨との間で形成される結合を、このタンパク質の非存在下での補綴物と骨との間での形成よりも強くする。

本発明の方法の好ましい実施態様では、人工股関節部代替デバイスのような補綴デバイス(例えば、チタンから生成された金属属性デバイス)は、例えば、骨の内方成長を誘導する骨形成材でまずコーティングされる。このデバイスが統いて個体に移植されるとき、移植部位の周囲の骨成長が増強され、インプラントと本来の骨との間に強い結合の形成がもたらされる。本発明の方法により、生体における補綴物の生物学的固定が増強される。特に重量を支える補綴物に対して重要である。微小孔表面構造を規定する補綴物は、骨形成が微小孔内で起こるように適切な位置に固着される。金属またはセラミックの補綴物は、それ自身でこのような構造を規定し得るか、またはその補綴物がコーティングされて付着性の孔構造を提供し得る。この目的に有用な材料には、例えば、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、および酪酸のホモポリマー、

特表平7-504680 (6)

(それらの誘導体を包含する) ; およびセラミック (例えば、ヒドロキシアパタイト、リン酸三カルシウム、または他のリン酸カルシウム類) が包含される。これらの材料の組み合わせは用いられる。次いで、実質的に純粋な骨形成タンパク質を非コーティングまたはコーティング補綴物に結合させる。あるいは、骨形成タンパク質をコーティング材と混合し得、そして混合物を補綴物の表面上に付着し得る。

本発明の他の実施態様では、マトリックス材と組み合わせた骨形成タンパク質は、補綴インプラントを支えるために調製された開口部に充填される。インプラントの表面はまた、上記のように骨形成タンパク質でコーティングされ得る。インプラントは、骨の内方成長を可能にする1つまたはそれ以上のくぼみを規定する形状を有する。このくぼみは、好ましくは、インプラントの縦軸に対して垂直方向である。一般に、インプラントの縦軸は、インプラントを支えるように処理されている骨の縦軸と同方向である。新しい骨がくぼみ中に成長し、それによってくぼみを埋め、上記のようにインプラントの表面と統合し、そして本来の骨と組み込まれる。従って、補綴物は開口部中にさらに堅く固定され得、そしてくぼみ中に骨が成長することにより、および新たな骨がインプラントの表面と骨統合することにより、骨形成タンパク質により刺激される両者により、「ラッチされる(latched)」、すなわち適当な位置に保持され得る。

特定の実施態様では、歯科用インプラントは、損失した歯

の代わりに用いられる。インプラントは、典型的には、頸骨中に固定される貫通部分および患者の歯の残部と組み込むように配置された歯部分を含む。インプラントは、骨形成タンパク質で (マトリックスまたはキャリアと共に、またはこれらを有さない) コーティングされ、そしてそれを支持するように調製された頸骨の歯槽中に貫通されているか、またはネジ止めされている (例えば、骨を、歯槽隙中に成長させて、この歯槽隙を埋めるようにしておく)。特に好ましい実施態様では、歯槽は、隙に骨成長組成物を満たすことにより、インプラントを支えるように調製される。この骨成長組成物は、適切なキャリア材に分散させた骨形成タンパク質から構成される。骨形成タンパク質とキャリアとの組み合わせを、本明細書中では「骨形成デバイス」と称する。骨形成タンパク質は、最初に骨成長が歯槽を満たすことを必要とせず、そして補綴物が本来の骨を貫通する (これにより、本来の骨の完全性を弱め得る) 必要がなく、インプラントの頸骨への骨統合を促進する。従って、抜歯と補綴物の充填との間の期間がかなり短くなる。補綴物の充填は1ヵ月ほどの短い期間で完成され得ることが理解される。さらに、骨形成タンパク質が補綴物の骨統合を促進し得るため、優れた固定材(anchor)が提供される。

上記の骨形成タンパク質でコーティングされた骨形成デバイスもまた本発明の主体である。このデバイスの全体または一部がタンパク質でコーティングされ得る。一般に、本来の

骨と接触される、デバイスの部分のみがコーティングされる。

本発明の方法およびデバイスにより、補綴物の生物学的固定が増強される。強い結合が本来の骨と補綴物との間で形成され、接合部位での機械的強度が改良される。付着強度が高いことは、骨形成が、より強固で耐久的であり、従って、患者に対しより快適で系統的であることを意味する。

図面の簡単な説明

図は、大腿骨に移植された補綴物の一部の断面図を示し、本発明の実施態様に従う骨の内方成長のラッチング作用を例示する。

発明の詳細な説明

本発明は、個体において補綴物の移植部位で補綴デバイスと天然骨との間の骨統合を増強する方法に関する。本発明の方法は、実質的に純粋な骨形成タンパク質と共に移植部位に補綴物を提供する工程を包含し、ここでこの骨形成タンパク質は移植された補綴物の全体または一部と接触している。このタンパク質は、補綴物および骨の骨統合を促進し、改良された引っ張り強度を有する強い結合となる。

本発明に有用である骨形成タンパク質は、実質的に純粋な骨形成に活性なダイマータンパク質である。本明細書中で用いられるように、「実質的に純粋な」とは、軟骨内骨形成活性を有さない他の混入タンパク質を実質的に含まないことを

意味する。このタンパク質は、哺乳類の骨に由来する天然由来タンパク質であり得るか、または組換え生産タンパク質であり得る (合成構築物を含む)。天然由来タンパク質は、ラット脱塩骨粉末に比較して、骨粉末から抽出した脱塩タンパク質の25mgあたり少なくとも25~50ngの半最大活性を有することにより特徴づけられる。

成熟型の未変性天然由来骨形成タンパク質は、SDS-PAGEにより決定された約30kDaの見かけ分子量を有するグリコシリ化ダイマーである。還元したとき、この30kDaタンパク質は、約16kDaおよび18kDaの見かけ分子量を有する2つのグリコシリ化ペプチドサブユニットを生じる。還元状態では、このタンパク質は検出可能な骨形成活性を有さない。非グリコシリ化タンパク質 (このタンパク質もまた骨形成活性を有する) は、約27kDaの見かけ分子量を有する。還元したとき、この27kDaタンパク質は、約14kDaおよび16kDaの分子量を有する2つの非グリコシリ化ポリペプチドを生じる。組換え生産骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む、哺乳類での軟骨内骨形成を誘導し得るダイマータンパク質の類を示し、各ポリペプチド鎖は、合成構築物、すなわちCOP-5またはCOP-7 (配列番号3および4) の配列に十分に重複したアミノ酸配列を有し、その結果、このポリペプチド鎖対は、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合されたとき、哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し得る。本明細書中で定義されるように、「十分に重複した」とは、マトリックスに関連して哺

特表平7-504680 (7)

乳類に移植したダイマータンパク質として軟骨内骨活性を有するタンパク質の類を示すことは理解される。各サブユニットは、C末端のシスティンに富む領域中で、OP5の配列（335残基から431残基まで、配列番号1）と少なくとも60%のアミノ酸配列相同性を有する。「相同性」とは、アミノ酸配列が同一であること、またはその配列との同類アミノ酸置換が生じていること（Dayhoffら、*Atlas of Protein Sequence and Structure*；第5巻、第3号、345～362頁、（W.D. Dayhoff編、Nat'l Biomed. Research Fdn., Washington, D.C., 1979）により定義される）と、本明細書中で定義される。有用な配列は、以下のタンパク質のC末端を含む配列である：DPP（ショウジョウバエ由来）、Vgl（アフリカツメガエル由来）、Vgr-1（マウス由来）、OP1およびOP2タンパク質、CBMP2、CBMP3、およびCBMP4タンパク質（米国特許第5,011,691号、およびOp permanannらにより1992年2月21日に出願された米国特許出願第07/7841,646号を参照のこと、これら両方の開示内容は本明細書中に参考として援用されている）、ならびにBMP5およびBMP6と称されるタンパク質（WO90/11366、PCT/US90/01630）。これらのタンパク質の多くはまたWO88/00205、米国特許第5,013,649号、およびWO91/18098に記載されている。表Iに、これら骨形成タンパク質ファミリーの好ましいメンバーを挙げる。

表I - 骨形成タンパク質配列

ンである；タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSOS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16S」とも称されている。

OP1-16Leu - N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種（配列番号1の313-431残基）。N末端アミノ酸はロイシンである；タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSOS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16L」とも称されている。

OP1-16Met - N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種（配列番号1の315-431残基）。N末端アミノ酸はメチオニンである；タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSDS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16M」とも称されている。

OP1-16Ala - N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種（配列番号1の316-431残基）。N末端アミノ酸はアラニンである；タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSDS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16A」とも称されている。

OP1-16Val - N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種（配列番号1の318-431残基）。N末端アミノ酸はバリンである；タンパク質は、グリコシル化パターンに依存してSDS-PAGE上で16kDaまたは15kDaに移動する。関連出願では「OP-16V」とも称されている。

mOP1 - マウスOP1タンパク質をコードするDNA（配列番

hOP1 - ヒトOP1タンパク質をコードするDNA配列（配列番号1または3）。関連出願では「OP1」、「hOP-1」、および「DP-1」とも称されている。

OP1 - 一般的に、hOP1遺伝子の一部または全体の発現により生産された骨形成に活性なタンパク質ファミリーを称する。関連出願では「OP1」および「OP-1」とも称されている。

hOP1-PP - ヒトOP1タンパク質（プレプロ型）のアミノ酸配列（配列番号1の1-431残基）。関連出願では「OP1-PP」および「OPP」とも称されている。

OP1-18Ser - 成熟ヒトOP1タンパク質のアミノ酸配列（配列番号1の293-431残基）。N末端アミノ酸はセリンである。元来COS細胞のSOS-PAGEでの18kDaに移動したバンドにより同定された。また、種々の宿主細胞におけるタンパク質グリコシル化パターンに依存して、SDS-PAGEで23kDa、19kDa、および17kDaに移動する。関連出願では「OP1-18」とも称されている。

OPS - 活性領域において保存的な6個のシスティン骨格を規定するヒトOP1タンパク質種（97アミノ酸、配列番号1の335-431残基）「S」は、「ショート(short)」を表す。

OP7 - 活性領域において保存的な7個のシスティン骨格を規定するヒトOP1タンパク質種（102アミノ酸、配列番号1の330-431残基）。

OP1-16Ser - N末端側が切断された成熟ヒトOP1タンパク質種（配列番号1の300-431残基）。N末端アミノ酸はセリ

ン8）。関連出願では「mOP-1」とも称されている。

mOP1-PP - マウスタンパク質のプレプロ型（配列番号8の1-431残基）。関連出願では「mOP-1-PP」とも称されている。

mOP1-Ser - 成熟マウスOP1タンパク質種（配列番号8の292-430残基）。N末端アミノ酸はセリンである。関連出願では「mOP1」および「mOP-1」とも称されている。

mOP2 - マウスOP2タンパク質をコードするDNA（配列番号12）。関連出願では「mOP-2」とも称されている。

mOP2-PP - mOP2タンパク質のプレプロ型（配列番号12の1-399残基）。関連出願では「mOP-2-PP」とも称されている。

mOP2-Ala - 成熟マウスOP2タンパク質種（配列番号12の261-399残基）。N末端アミノ酸はアラニンである。関連出願では「mOP2」および「mOP-2」とも称されている。

hOP2 - ヒトOP2タンパク質をコードするDNA（配列番号10）。関連出願では「hOP-2」とも称されている。

hOP2-PP - ヒトOP2タンパク質のプレプロ型（配列番号10の1-402残基）。関連出願では「hOP-2-PP」とも称されている。

hOP2-Ala - 生じ得る成熟ヒトOP2タンパク質種；配列番号10の264-402残基）。関連出願では「hOP-2」とも称されている。

hOP2-Pro - 生じ得る成熟ヒトOP2タンパク質種（配列番号10の267-402残基）。N末端アミノ酸はプロリンである。関連出願では「hOP-2P」とも称されている。

hOP2-Arg - 生じ得る成熟ヒトOP2タンパク質種（配列番号10の270-402残基）。N末端アミノ酸はアルギニンである。関連出願では「hOP-2R」とも称されている。

hOP2-Ser - 生じ得る成熟ヒトOP2タンパク質種（配列番号10の243-402残基）。N末端アミノ酸はセリンである。関連出願では「hOP-2S」とも称されている。

Vgr-1-fx - ネズミ「Vgr-1」タンパク質のC末端の102アミノ酸残基（配列番号7）。

CBMP2A - ヒトBMP2Aタンパク質のC末端の101アミノ酸残基（配列番号14の296-396残基）。

CBMP2B - ヒトBMP2Bタンパク質のC末端の101アミノ酸残基（配列番号1B）。

BMP3 - 成熟ヒトBMP3（部分配列、配列番号16。C末端の102残基に関して米国特許第5,011,691号「CBMP3」を参照のこと。）

BMP5-fx - ヒトBMP5タンパク質のC末端の102アミノ酸残基（配列番号20）。

BMP6-fx - ヒトBMP6タンパク質のC末端の102アミノ酸残基（配列番号21）。

COP5 - 生合成骨形成96アミノ酸配列（配列番号3）。

COP7 - 生合成骨形成96アミノ酸配列（配列番号4）。

DPP-fx - ショウジョウバエ「DPP」タンパク質のC末端の102アミノ酸残基（配列番号5）。

Vgl-fx - アフリカツメガエル「Vgl」タンパク質のC末

端の102アミノ酸残基（配列番号6）。

表記タンパク質ファミリーのメンバーは、この領域に保存的な6個または7個のシステイン骨格を共通して有している（例えば、これらのC末端システイン残基の直線配置は、種々のタンパク質で保存されている）。例えば、OP5（この配列は6システイン骨格を規定する）またはOP7（OP1の長型、102個のアミノ酸を含み、そしてこの配列は7システイン骨格を規定する）を参照のこと。さらに、OP2タンパク質は、この領域内にさらなるシステイン残基を含む。

表記タンパク質ファミリーには、所定のタンパク質の長型、ならびに種および対立遺伝子変異種および生合成的変異体（付加および欠失の変異体および変異種を含む）を包含する。これらは、保存的なC末端システイン骨格を変化し得るが、この変化により、タンパク質が、マトリックスに関連して哺乳類に移植されたときに哺乳類において骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有するダイマー種を形成し得る場合に限られる。さらに、本発明のデバイスに有用な骨形成タンパク質は、種々のグリコシル化パターンおよび種々のN末端を有する型を含み得、天然に存在し得るかまたは合成的に誘導され得、そして原核または真核の宿主細胞における組換えDNAの発現により生産され得る。このタンパク質は、単独種として活性であるか（例えばホモダイマー）、または混合種として組み合わされ得る。

本発明の補綴デバイスに有用な上記タンパク質の特に好ましい実施態様は、システインに富むC末端ドメインのアミノ酸配列が、OP5のアミノ酸配列と60%より大きい同一性を有しており、好ましくは65%より大きい同一性を有する。

別の好ましい局面では、本発明は、本明細書中で「OPX」と称する一般アミノ酸配列を有するポリペプチド鎖からなる種を含む骨形成タンパク質を含む。この配列により、骨形成OP1タンパク質および骨形成OP2タンパク質の種々の同定された種の間で相同性が提供され、そしてこの配列は、配列番号22のアミノ酸配列により示される。

さらに別の好ましい局面では、本発明は、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でOP1またはOP2の活性領域をコードするDNA配列またはRNA配列にハイブリダイズする核酸、およびこれらの核酸によりコードされる骨形成に活性なポリペプチド鎖を含む。本明細書中で用いられるように、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件とは、40%ホルムアミド、5×SSPE、5×デンハート溶液、および0.1%SDS中で37°Cで一晩ハイブリダイズし、そして0.1%SSPE、0.1%SOS中で50°Cで洗浄することと定義される。

本発明は、さらに、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でOP1またはOP2の「プロ」領域にハイブリダイズする核酸、およびこれらの核酸によりコードされる骨形成に活性なポリペプチド鎖を含む。本明細書中で用いられるように、「骨形成に活性なポリペプチド鎖」とは、二量体化さ

れたときに、以下のようなコンホーメーションを有するタンパク質種を生成するこれらのポリペプチド鎖を意味することが理解される。このコンホーメーションは、このポリペプチド鎖対が、マトリックスまたはキャリアに関連して哺乳類に移植されたときに哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションである。

上記のアミノ酸およびDNAの配列情報、当該分野の技術レベル、および米国特許第5,011,691号および公開PCT出願明細書US 89/01469 (1989年10月19日公開)の開示（これらの開示内容は本明細書中に参考として援用されている）を得ることにより、本発明のデバイスに有用な、骨形成タンパク質、およびそれらの種々のアナロゲ（種および対立遺伝子変異種、および遺伝子工学的に設計された変異を含む変異種を含む）、ならびに融合タンパク質、成熟タンパク質の切断型、欠失および付加変異体、および類似の構築物の少なくとも活性ドメインをコードする種々のDNAが構築され得る。さらに、DNAハイブリダイゼーションプローブは、これらのタンパク質のいずれのフラグメントからも構築され得、または上記一般配列からde novoに設計され得る。これらのプローブは次いで異なるゲノムライブラリーおよびcDNAライブラリーをスクリーニングするのに用いられて、本発明の補綴デバイスに有用なさらなる骨形成タンパク質を同定し得る。

このDNAは、周知のDNA操作技法（ゲノムおよびcDNAの単離、合成したオリゴヌクレオチドからの合成DNAの構築、およびカ

セット突然変異誘発法を含む)を用いて、当業者により作製され得る。15~100マーのオリゴヌクレオチドは、DNAシンセサイザーで合成され得、トリス-ホウ酸-EDTA緩衝液中のボリアクリルアミドゲル電気泳動(PAGE)により精製され得る。次いで、このDNAは、ゲルから電気溶出され得る。重複するオリゴマーは、T4ポリヌクレオチドキナーゼによりホスホリル化され得、そしてより大きなブロックに連結され得、これをまたPAGEにより精製し得る。

次いで、適切に同定されたクローン由来のDNAが単離され得、サブクローニングされ得(好ましくは発現ベクター中に)、そして配列決定され得る。次いで、目的の配列を含むプラスミドが、タンパク質発現およびさらなる特徴付けのために適切な宿主細胞にトランスフェクトされ得る。この宿主は、原核細胞または真核細胞であり得る。前者の場合でのタンパク質をグリコシル化しないことは、上記タンパク質の形態形成活性を喪失させない。有用な宿主細胞には、*E. coli*、*Saccharomyces*、昆虫/バキュロウイルス細胞系、ミエローマ細胞、CHO細胞、および種々の他の哺乳類細胞が含まれる。ベクターは、組換えタンパク質の正確な発現を促進する種々の配列をさらにコードし得る。この配列は、転写プロモーターおよび終止配列、エンハンサー配列、好ましいリボゾーム結合部位配列、好ましいmRNAリーダー配列、タンパク質分泌のために好ましいシグナル配列などを含む。

目的の遺伝子をコードするDNA配列はまた、組合せ可能性のある

配列を除去するかまたは望ましくない二次構造の形成を最小化するように操作され得る。組換え骨形成タンパク質はまた、融合タンパク質として発見され得る。翻訳された後、このタンパク質は細胞自身から精製され得るか、または培地から回収され得る。すべての生物学的に活性なタンパク質の型は、ジスルフィド結合により結合されるか、またはそうでなければ、個々のサブユニットの発現後に適切な真核細胞内またはインビトロで1つまたはそれ以上の種々の組換えポリペプチド鎖を折り疊み、酸化することにより会合されて生成されるダイマー種を包含する。*E. coli*における組換えDNAから発見した骨形成タンパク質の詳細な説明は、米国特許出願第422,699号(1989年10月17日に出願)に開示されており、この開示内容は本明細書中に参考として援用されている。多くの種々の哺乳類細胞における組換えDNAから発見した骨形成タンパク質の詳細な説明は、米国特許出願第569,920号(1990年8月20日に出願)に開示されており、この開示内容は本明細書中に参考として援用されている。

あるいは、骨形成ポリペプチド鎖は、当業者に周知の従来のペプチド合成法を用いて化学的に合成され得る。例えば、このタンパク質は、固相ペプチド合成機で、標準的な操作手順を用いて、完全な形または部分的に合成され得る。次いで、完成した鎖を脱保護し、HPLC(高速液体クロマトグラフィー)により精製する。タンパク質が部分的にしか合成されない場合、その部分を標準法を用いてペプチド結合して、完

全なタンパク質を形成し得る。一般的に、骨形成タンパク質が作製される方法は、従来的であり得、本発明の一部を形成するわけではない。

本発明に有用な骨形成タンパク質は、哺乳類の体内に移植されたとき、軟骨内骨形成の発達カスケード(間葉細胞の補充および増殖、前駆細胞の分化、軟骨形成、軟骨の石灰化、血管侵入、骨形成、改造作用(リモデリング)、および骨髓分化を包含する)を誘導するタンパク質である。本発明の補綴物と接触させる骨形成タンパク質は、本質的に天然の骨治療において生じるように、移植部位で軟骨内骨形成の充分な発達カスケードを誘導し得る。

本発明の方法と共に用いられ得る補綴物は、当該分野で周知の型の有孔または無孔の整形外科補綴物であり得る。このような補綴物は、一般的に金属のような堅い材料から製造され得る。このような金属としては、例えば、ステンレス鋼、チタン、モリブデン、コバルト、クロム、および/またはこれらの金属の合金または酸化物が挙げられる。このような酸化物は、典型的には、薄くて安定した付着性の酸化金属表面コーティングを含む。この補綴物は、骨の浸入が可能のように、好ましくは、有孔性金属から形成されるかまたは有孔性金属でコーティングされているが、無孔性材料もまた用いられ得る。補綴物に用いられる有孔性金属材は、例えば、*Spectator, J. Arthroplasty, 2(2):163-176 (1987)*および*Cookら, Clin. Orthoped. and Rel. Res., 232:225-243 (1988)*に記

載されており、両文献の教示内容は本明細書中に参考として援用されている。金属性補綴物は、主要な骨または関節の代用、および非癒着性の骨折の治療のために用いられ得る(例えば、本来の骨が疾患または損傷により破壊されている場合)。

本発明のデバイスおよび方法の好ましい実施態様では、補綴物は、上記タンパク質に加えて、骨の内方成長および固定を増強する材料でコーティングされる。この目的のために有用な材料は、生体適合性であり、好ましくはインビボにおいて生体分解性であり非免疫原性である。このような材料としては、例えば、コラーゲン、ヒドロキシアパタイト、グリコール酸、乳酸、および酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属(例えば、酸化チタン)、および脱脂し、グアニジン抽出した骨が挙げられる。

本発明のコーティングされた補綴物は、補綴物の全体または一部に、上記タンパク質溶液、必要に応じてヒドロキシアパタイトまたは他の材料を塗布することにより調製される。タンパク質は、好都合な方法(例えば、ディッピング、刷毛塗り、液浸、スプレー塗布、または凍結乾燥)により塗布され得る。ヒドロキシアパタイトは、好ましくは、プラズマスプレー処理により塗布され得る。上記タンパク質は、好ましくは、補綴物をタンパク質溶液中に、溶液のタンパク質のインプラントへの結合または沈降を誘導するのに適切な条件下で浸漬することにより塗布され得る。インプラントに塗布さ

れるタンパク質の量は、補綴物が受容者に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導するのに充分な濃度でなければならない。一般的に、表面積 3.4cm^2 あたり少なくとも $5\mu\text{g}$ のタンパク質の範囲の濃度がこのような目的には十分である。ヒドロキシアバタイトまたは他のキャリア材料が用いられる場合には、これらの材料は約 $15\mu\text{m}$ から約 $60\mu\text{m}$ の厚さを形成するのに必要とされる量で補綴物に塗布される。実施例に示すように、約 $25\mu\text{m}$ 厚さのヒドロキシアバタイト層がインプラント固定の改良に用いられている。

1つの局面では、補綴物は、該補綴物を支えるように調製された開口部に挿入されるように形成されるデバイスを含む。この実施態様では、図に示すように、骨の内部(10)を、インプラント(12)の挿入のための準備としてくり抜く。このインプラントは、複数のくぼみ(16)を規定する不規則輪郭の表面デザイン(14)を有し、このためくぼみへの骨の内方成長が可能になる。このくぼみは、好ましくは、インプラントの縦軸(18)に対して垂直方向にある。開口部に挿入される不規則輪郭部分は、上記のように骨形成タンパク質でコーティングされ得る。マトリックス材(20)と組み合わされる骨形成タンパク質を、補綴インプラントと共に開口部に充填し、それによりインプラントを取り囲む骨形成タンパク質により刺激されて、上記のように、新たな骨がくぼみ(16)中に成長し、インプラント(12)の表面および既に存在する骨(10)と統合する。従って、上記補綴物は、適切な位置で機械的および生物学的

に固定され、骨に関連するインプラントの軸の動きは、骨組織の剪断を必要とするようになる。骨の成長および固定を増強する補綴物のコーティングのためのマトリックス材(20)は、上記の材料のいずれかであり得る。例えば、コラーゲン、ヒドロキシアバタイト、グリコール酸、乳酸、および酢酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属(例えば、酸化チタン)、および脱塩化アミニン抽出した骨が挙げられる。本発明の実施態様で用いられ得る骨形成タンパク質との使用のためのマトリックス材は、例えば、米国特許第5,011,691号、および同時係属米国特許出願第07/841,646号(Oppeermannらによる、1992年2月21日に出願)に記載の材料であり、これらの教示内容は、これにより本明細書中に参考として援用される。

図に示される補綴物は、最後に補綴物の一部が骨組織にはめ込まれるべき場所への、歯科用インプラントおよび他のインプラントに特に有用である。開口部(例えば歯槽)の「骨形成デバイス」(例えばマトリックス材と組み合わせた骨形成タンパク質)での充填は、このデバイスが本来の骨に貫通される必要がなく、補綴物をはめ込む場所に堅い材料を提供する。さらに、骨形成タンパク質は、歯槽内およびインプラント中および周囲の軟骨内骨形成を刺激し、よって、補綴物が移植される適切な表面を提供するために以前必要とされていた歯槽への最初の低いレベルの骨の内方成長の工程が不要

となる。従って、本発明のデバイスおよび方法を用いると、移植された補綴物の強い固定が、以前必要とされていた時間の何分の1かの時間で達成され得、よって、抜歯と補綴物の充填との間の時間がかなり短くなる。さらに、この処理は、移植療法の用途を拡大し得、そして、手術工程を取り除き、抜歯のために損失する骨の量を減少し、インプラントをより長い期間挿入でき、そして頸堤吸収により伴われる補綴物の妥協を最小限にすることにより成功の比率を増大し得る。

本発明は、以下の実施例によりさらに説明され、いかなる方法によっても限定されないことが意図される。

実施例

実施例1

金属インプラント固定

長さ 18mm および直徑 $5.95 \pm 0.05\text{mm}$ の円筒状インプラントを球状のCo-Cr-Mo粒子から製造し、これは孔サイズ $250 \sim 300\mu\text{m}$ および孔隙率 $38 \sim 40\%$ であった。結晶度の高く、高密度で孔隙率の低いヒドロキシアバタイト(HA)のコーティングをプラズマスプレー処理により、各インプラントの長さの半分にまで施した。コーティングの厚さは $25\mu\text{m}$ であり、有孔性のコーティング形態を変化させなかった。

最初の実験では、3つのインプラントを部分的に精製したウシOP(bOP)調製物で処理した。bOPは、骨皮質(cortical bo

ne)から抽出し、Sampathら、J. Biol. Chem., 265:13198-13205 (1990)に記載の精製プロトコルのSephacryl-300 HRステップにより部分的に精製した天然由来のOPであった。約 $80\mu\text{g}$ のbOPを含む、4M グアニジン-HCl、50mM トリス-HCl、pH 7.0を $200\mu\text{l}$ ずつ、エッペンドルフチューブ中の各インプラントに加えた。4°Cで一晩インキュベートした後、タンパク質を沈殿させ、そしてインプラントを80%エタノールで洗浄した。インプラントを統一して凍結乾燥した。bOPを含まない2つのインプラントをコントロールとして与えた。

上記インプラントを骨格が十分に発達した雑種の成犬(3~5歳、20~25kg体重)で大腿骨皮質間モデルを用いて評価した。動物が1つの大腿骨に5つのインプラントが与えられるように、標準的な手術法を用いて行った。3週間で犬を屠殺し、大腿骨を取り出した。

各インプラントが単離されるように、採取した大腿骨を長軸に対して垂直方向に切断した。各インプラントを半分に切断し、1つのHAコーティングサンプルおよび1つの非コーティング押し出し(push out)サンプルを得た。接触面付着強度を特別に設計された試験固定装置を用いて測定した。インプラントは、MTS試験機で $1.27\text{mm}/\text{min}$ の変位速度で破断した。試験後、標準的な非脱灰組織学的分析およびマイクロラジオグラフィー分析のために、すべてのサンプルを調製した。切片(各インプラントに対し4切片)を、組織内方成長の型および質について定性試験し、コンピューター画像分析システム

特表平7-504680 (11)

で骨内方成長の%を定量的に評価した。機械的データおよび定量組織学的数据を表IIに示す。

表 II
金属インプラント - bOP

3 週間		
	HAコーティング	非コーティング
特点剪断強度 / MPa		
コントロール	9.70 (n=2)	3.40 (n=2)
9ヶ月質 (bOP)	10.75 (n=3)	4.08 (n=3)
骨内方成長 (%)		
コントロール	42.56 (n=4)	37.82 (n=4)
9ヶ月質 (bOP)	51.66 (n=4)	46.38 (n=4)

機械的データおよび組織学的数据の両データは、bOPがインプラントの骨統合を増強したことを示唆した。HAコーティングおよび非コーティングの両インプラントともが、未処理コントロールに比較して剪断強度および骨内方成長の増大を示した。さらに、HAコーティングインプラントは、非コーティングインプラントに比較して有意な増強を示すと思われた。組織学的切片では、金属孔の間に非常に多くの細胞が直接観察された。

最初のインプラント研究で肯定的な結果が得られたので、より詳細な研究が促された。27のインプラントを粗換えヒト

OPIタンパク質で処理した。OPIタンパク質は、形質転換CHO細胞により生産された。OPIの粗換え生産の詳細は米国特許出願第841,646号に開示されており、上記に参考として援用されている。このタンパク質を精製し、主要種としてOPI-18Ser(配列番号1の293-431残基)と称されるタンパク質、および約30%はOPIの切断型(例えば、OPI-16Ser、OPI-16Leu、OPI-16Met、OPI-16Ala、およびOPI-16Val)を含んだ。このタンパク質の純度は90%より高かった。インプラントを、5μgの粗換えタンパク質を含む200μlの50%エタノール/0.01%TFA中に30分間浸漬し、そして処方チューブがロールする間、この溶液をエタノール/ドライアイス浴中で凍らせた。チューブを統いて凍結乾燥した。また、19のインプラントを、同一の手順により、OPIタンパク質を含ませずにエタノール/TFAで処理することにより調製した。

試験インプラントでは、OPIは8M尿素、1%Tween 80、50mMトリス、pH 8.0で処理したインプラントから抽出され得、HPLCにより分析され得ることがわかった。この方法により、処方チューブ中のすべてのOPIは、用いられた条件下でインプラントに結合したことが示された。さらに、試験インプラントは、HAで半分がコーティングされているので、これらの表面のそれへのOPIの結合を評価するために別のインプラントを得た。最初の結合試験により、OPIは非コーティング金属よりもHAにより容易に結合することが示された。

第二の試験に関し、インプラントは、骨格が十分に発達し

た雌種の成犬で上記大腿骨皮質間モデルを用いて評価した。各動物に対し両側に5つのインプラントを入れるように、標準的な無菌手術法を用いた。移植期間は3週間であった。機械的データおよび定量組織学的数据を表IIIに示す。3つのHAコーティングおよび非コーティング形態を評価した: コントロール(未処理)、プレコーティングサンプル(OPIを含まない処方)、および上記のOPIサンプル。

表 III
金属インプラント - OP-1

特点剪断付着強度 / MPa		骨内方成長 (%)		
3 週間 :		3 週間 :		
	HAコーティング	非コーティング	HAコーティング	
コントロール	7.59±2.99 (n=10)	6.47±1.23 (n=10)	44.98±12.57 (n=24)	41.66±11.91 (n=24)
プレコーティング	7.85±3.43 (n=9)	6.49±2.20 (n=9)	40.73±16.88 (n=24)	39.14±16.18 (n=24)
9ヶ月質 (OP-1)	8.69±3.17 (n=17)	6.34±3.04 (n=17)	48.68±16.61 (n=24)	47.89±11.91 (n=24)

機械的試験の結果は、非コーティングサンプルに比較してHAコーティングサンプルの付着強度が増強されていることを示した。3週間で、タンパク質を伴うHAコーティングインプラントで最も強い固定が認められた。

組織学的分析では、非コーティングサンプルに対しすべてのHAコーティングで、差は有意ではないがより大きな骨内方

成長が示された。骨内方成長%は、タンパク質が存在するHAコーティングインプラントおよび非コーティングインプラントが最も大きかった。直線回帰分析により、付着強度は孔構造への骨成長量、HAコーティングの存在、およびタンパク質の存在により推定されることが示された。

実施例2

チタンは金属補綴物を製造するのにしばしば用いられる。これらの補綴物の表面は、酸化チタン層を含む。従って、酸化チタン自身を、OP-1に対するキャリアとして扱われる可能性、および一般に骨形成プロセスとの生体適合性に対して評価した。酸化チタンおよびOP-1(配列番号1の293-431残基)の組み合わせを含むインプラントのインビボでの生物学的活性を、ラットの皮下および筋内アッセイで試験した。インプラントは、30mgの酸化チタンに処方した0、6.25、12.5、25、または50μgのOP-1を含んだ。

インプラントをエタノール/TFA凍結乾燥法の変法により処方した。酸化チタンペレットをすりつぶし、250~420ミクロンの粒子サイズとなるように筛にかけた。これらの粒子30mgを、OP-1を全く含まないかまたはOP-1を種々の濃度で含む、45%エタノール、0.09%トリフルオロ酢酸50μlづつと混合した。4℃で3時間後、サンプルを凍らせ、凍結乾燥し、そしてラットに移植した。

インビボで12日後、インプラントを取り出し、アルカリホ

スマターゼ比活性、カルシウム含量、および組織学的微候により骨形成について評価した。この結果により、OP-1は、皮下および筋内の両インプラント部位でOP-1の各濃度での骨の形成を誘導することが示された。酸化チタンにOP-1を加えなかった場合、骨は形成されなかった。インプラントのカルシウム含量により定量される骨の量は、骨のコラーゲンキャリアを用いて得られる量と類似している。従って、チタンは骨形成タンパク質に対して有用なキャリアであり、そして骨形成プロセスと生体適合性である。

実施例3

標準的な歯科用補綴物における本発明の方法の効力は、以下のモデルおよびプロトコルを用いて評価され得る。上頸および下頸の切歯および下頸犬歯を、数匹（例えば3匹）の雄のカニクイザル (*Macca fascularis*) (4~6 kg) から、ケタミン麻酔法およびリドケイン局所浸潤麻酔下で抜歯した。止血を圧迫法で行った。

結果的に得られた歯のない歯槽に、(a)コラーゲンマトリックス(CM)、(b)骨形成タンパク質（例えば、上記の実施例1で用いた組換え生産OP-1タンパク質）を含むコラーゲンマトリックス（例えば骨形成デバイス）のいずれかを詰めるか、または(c)未処理のまますする。チタン製のタッピングネジ式口腔内骨内インプラント (Nobelpharma, Chicago, IL) を、ネジの先端を最小限でとりつけることにより、すべての歯槽中に挿

入した。粘膜性骨膜弁は、その下にある組織から切り離され、当該医療分野で既知である標準的な手術法を用いて主な創傷閉鎖を得るのに用いられる。

3週間後、動物をペントバルビタールの致死注入およびバラホルムアミドーグルタルアルデヒドでの灌流により屠殺した。次いで、頸を解剖し、適当な歯槽を含むブロックを切除し、さらに天然の緩衝ホルマリン中に固定し、ギ酸およびクエン酸ナトリウム中で脱灰し、プラスチック中に包埋し、そして塩基性フクシンおよびトルイジンブルーで染色する。次いで、切片を光学顕微鏡により分析する。好ましくは、コンピューター補助組織形態測定分析が、新たな組織の評価に用いられる（例えば、Image 1.27およびQuick Capture®(Data Translation, Inc. Marlboro, MA 07152)）。

骨形成デバイスを含む歯槽は、3週間以内で、チタンインプラントの貫通表面に密接した位置での新たな骨の形成を誘導することが理解される。対して、コラーゲンマトリックスのみで処理した歯槽、またはコラーゲンマトリックスおよび骨形成タンパク質の両方を含まない歯槽は、インプラント表面に密接した位置で骨形成を示した微候がみられなかった。

均等物

当事者は、通常的な実験のみを用いて、本明細書中に記載のかかる事項に対し、多くの均等物があることを確定することができる。このような均等物は、以下の請求の範囲に

より包含されることが意図される。

(以下余白)

配列表

(I) 一般の情報:

(i) 出願人:
 (A) 名称: クリエイティブ バイオモレキュールズ,
 インコーポレイテッド
 (B) 番地: サウス ストリート 35
 (C) 市: ホブキンソン
 (D) 州: マサチューセッツ
 (E) 国: アメリカ合衆国
 (F) 郵便番号: 01760
 (G) 電話: 1-508-435-9001
 (H) テレファックス: 1-508-435-0454
 (I) テレックス:

(A) 名称: ストライカー バイオテック
 (B) 番地: ワン アップル ヒル
 (C) 市: ネイティック
 (D) 州: マサチューセッツ
 (E) 国: アメリカ合衆国
 (F) 郵便番号: 01760
 (G) 電話: 1-508-653-2280
 (H) テレファックス: 1-508-653-2770
 (I) テレックス:

(ii) 発明の名称: 増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

(iii) 配列数: 22

(iv) 連絡住所:

(A) 住所人: クリエイティブ バイオモレキュールズ,
 インコーポレイテッド
 (B) 番地: サウス ストリート 35
 (C) 市: ホブキンソン
 (D) 州: マサチューセッツ
 (E) 国: アメリカ合衆国
 (F) 郵便番号: 01760

(v) コンピューター読み出し形容:
 (A) 媒体型: フロッピーディスク
 (B) コンピューター: IBM PC互換用
 (C) OS: PC-DOS/MS-DOS
 (D) ソフトウェア: パテントイン リリース #1.0、バージョン #1.25

(vi) 現在の出願データ:

(A) 出願番号:
 (B) 出願日:
 (C) 分類:

特表平7-504680 (13)

(viii)代理人／事務所情報：

- (A)氏名：ビッチャー エスク、エドマンド アール。
- (B)登録番号：27,829
- (C)照会ノ記録番号：STK-057

(ix)電話回線情報：

- (A)電話：017/248-7000

(2)配列番号:1の情報：

(i)配列の特色：

- (A)長さ：1822塩基対
- (B)型：核酸
- (C)鎖の数：一本鎖
- (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイポセティカル配列：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

- (A)生物名：ヒト
- (B)組織の種類：海馬

(ix)配列の特徴

- (A)特徴を表す記号：CDS
- (B)位置：49..1341
- (C)配列を決定した方法：E (実験による)
- (D)他の情報：／機能＝「各形成タンパク質」
／産物＝「OP1」
／証拠＝実験による
／標準名＝「OP1」

(xi)配列：配列番号：1:

GGTCCCCGGCC CGGAGCCCCCG AGGCCGGGATA GCGCGTAGAG CCGGGGGCG ATG CAC GTG Met His Val 57

CGC TCA CTG CGA GCT GCG GCG CCC AAC AGC TTC GTG GCG CTC TGG GCA Arg Ser Leu Arg Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala Leu Thr Ala 5 10 15

CGG CTG TTC CTG CTG CGC TCC CCC CTG GCC GAC TTC AGG CTG GAC AAC Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser Leu Asp Asn 20 25 30 35

GAG GTG CAC TCG ACC TTC ATC AAC CGG CCC CTC CGC AGC CAG GAG CGG Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser Gln Glu Arg 40 45 50

CGG GAG ATG CAG CGC GAG ATC CTC TCC ATT TTG GGC TTG CCC CAC CGC Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu Pro His Arg 55 60 65

GGC CGC CCG CAC CTC CAG GCC AAG AAC TCG GCA CCC ATG TTC ATG Pro Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro Met Phe Met 70 75 80

CTG CAC CTG TAC AAC GCC ATG GCG GTG GAG GGC GGC GGG CCC GGC Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Gly Gly Pro Gly 85 90 95

GGC CAG GGC TTC TCC TAC CCC TAC AAG GCC GTC TTC AGT ACC CAG GGG Gly Gln Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr Gln Gly 100 105 110 115

(以下余白)

(以下余白)

GGC CCT CTG GCC AGC CTG CAA GAT AGC CAT TTC CTC ACC GAC GCC GAC Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp Ala Asp 120 125 130

441

AGC GAC CAG AGG CAG GCC TGT AAG AAG AAC CAC GAG CTG TAT GTC AGC TTC Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe 325 330 335

1065

ATG GTC ATG AGC GTC AAC CTC CTG GAA CAT GAC AAG GAA TTC TTC Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu Phe Phe 135 140 145

489

CGA GAC CTG CGC TGG CAG GAC TGG ATC ATC GCG CCT GAA GGC TAC GCC Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala 340 345 350 355

1113

CAC CCA CGC TAC CAC CAT CGA GAG TTC CGG ITT GAT CTT TCC AAG ATC His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser Lys Ile 150 155 160

537

GCC TAC TAC TGT GAG GGG GAG TGT GCC TTC CCT CTG AAC TCC TAC ATG Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met 360 365 370

1161

GCA GAA GGG GAA GCT GTC ACC GCA GCG GAA TTG CGG ATC TAC AAG GAC Pro Glu Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Asp 165 170 175

585

AAG GCC ACC AAG CAC GCC ATC GTG CAG ACC CTG GTC CAC TTC ATG AAC Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Ile Asn 375 380 385

1209

TAC ATC CGG GAA CGC TTC GAC AAT GAG ACC TTC CGG ATC AGC GTT TAT Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Arg Ile Ser Val Tyr 180 185 190 195

633

CCG GAA ACC GTG CGG AAG CCC TCC TGT GCG CCC ACG CAG CTC AAT GCC Pro Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu Asn Ala 390 395 400

1257

CAG GTG CTC CAG CAG CAC TTC AGG GAA TCG GAT CTC TIC CTG CTC Glu Val Leu Gln Glu His Leu Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe Leu Leu 200 205 210

681

ATC TCG GTC CTC TAC TTC GAT GAC ACC TCC AAC GTC ATC CTG AAA AAA Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys 405 410 415

1305

GAC AGC CGT ACC CTC TGG GCC TCG GAG GAG GGG TGG CTG CTG TTT GAC Asp Ser Arg Thr Leu Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val Phe Asp 215 220 225

729

TAC AGA AAC ATG GTG GTC CGG GCC TGT GGC TGC CAC TAGCTCTCC Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His 420 425 430

1351

ATC ACA GCC ACC AGC CAC TCG GTG GTC AAT CGG CGG CAC AAC CTG Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His Asn Leu 230 235 240

777

GAGAAATTTCAG ACECTTTGGG GCGCAAGTTT TCTGGATCTC CCATTTGCTCG CCTTGCCGAG 1411

1411

GGC CTG CAG CTC TCG GTG GAG AGC CTG GAT GGG CAG AGC ATC AAC AGG CCC Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile Asn Pro 255 260 265 270 275

825

GAACCCAGAG ACCAACCTGGC TTITTGAGAGA CCTTCCCTCC CCTATACCCCA ACTTTAAAGG 1471

1471

AAG TTG GCG CGC CTG ATT GGG CGG CAC GGG CAC AAC AAG CAG CCC Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys Gln Pro 280 285 290

873

TGTGAGAGTA TTAGGAAACA TGAGCAGCAT ATGGCTTITG ATCAGTTTTI CAGTGGCAGC 1531

1531

TTC ATG GTG GCT TTC TAC AAG GCC AGC GAG GTC CAC TTC CGG AGC ATC Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Phe Arg Ser Ile 295 300 305

921

ATCCAATGAA CAAGATCTA CAAGCTGTC AGGCCAAAACC TAGCAGGAAA AAAAAACAC 1591

1591

CGG TCC ACC AGC AAA CAG CGC AGC EAG AAC CGC TGG AAC AGC CCC Arg Ser Thr Gly Ser Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro 310 315 320

969

GCATAAAGAA AAATGGCCGG GCGAGGTCAT TGGCTGGGAA GTCTCAGGCCA TGCAAGGACT 1651

1651

AAG AAC CAG GAA GCC CTG CGG ATG GCC AAC CTG GCA GAG AAC AGG AGC Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Asn Val Ala Glu Asn Ser Ser 330 335 340

1017

CGTTTCCAGA GGTAAATTAGA AGGCCCTTAC AGCCAGGCCA CCCAGCCGTG GGAGGAAGGG 1711

1711

(ii)配列番号:2の情報：

(i)配列の特色：

- (A)長さ：431アミノ酸
- (B)型：アミノ酸
- (C)構造：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

特表平7-504680 (14)

(xi)配列：配列番号：2：

```

Met His Val Arg Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala
   1          5          10          15
Leu Trp Ala Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser
   20         25          30
Leu Asp Asn Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser
   35         40          45
Gln Glu Arg Arg Glu Het Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu
   50         55          60
Phe His Arg Pro Arg Pro His Leu Gln Gly Lys His Asn Ser Ala Pro
   65         70          75          80
Met Phe Met Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Glu Gly Gly
   85         90          95
Gly Pro Gly Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser
   100        105         110
Thr Gln Gly Pro Pro Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr
   115        120         125
Asp Ala Asp Met Val Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys
   130        135         140
Glu Phe Phe His Pro Arg Tyr His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu
   145        150         155         160
Ser Lys Ile Pro Gln Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile
   165        170         175
Tyr Lys Asp Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Arg Ile
   180        185         190
Ser Val Tyr Gln Val Leu Gln Glu His Leu Gly Arg Glu Ser Asp Leu
   195        200         205
Phe Leu Leu Asp Ser Arg Thr Leu Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu
   210        215         220
Val Phe Asp Ile Thr Ala Thr Set Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg
   225        230         235         240
His Asn Leu Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser
   245        250         255
Ile Asn Pro Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn
   260        265         270

```

```

Lys Gln Pro Phe Met Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Phe
   275          280          285
Arg Ser Ile Arg Ser Thr Gly Ser Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser
   290          295          300
Lys Thr Pro Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Asn Val Ala Glu
   305          310          315          320
Asn Ser Ser Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr
   325          330          335
Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu
   340          345          350
Gly Tyr Ala Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn
   355          360          365
Ser Tyr Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His
   370          375          380
Phe Ile Asn Pro Glu Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln
   385          390          395          400
Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile
   405          410          415
Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His
   420          425          430

```

(2)配列番号：3C情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：96アミノ酸
 - (B)型：アミノ酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

- (ix)配列の特徴
 - (A)特徴を表す記号：Protein
 - (B)位置：1..96
 - (D)他の情報：／注記：「COP-5」

(xi)配列：配列番号：3：

```

Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asp Asp Trp Ile Val Ala
   1          5          10          15
Pro Pro Gly Tyr Gln Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Pro
   20         25          30

```

```

Leu Ala Asp His Phe Asn Ser Thr Asn His Ala Val Val Gln Thr Leu
   35          40          45
Val Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Val Pro Thr
   50          55          60
Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu Asn Glu Lys Val
   65          70          75          80
Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Het Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg
   85          90          95

```

(2)配列番号：4C情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：96アミノ酸
 - (B)型：アミノ酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

- (ix)配列の特徴
 - (A)特徴を表す記号：Protein
 - (B)位置：1..96
 - (D)他の情報：／注記：「COP-7」

(xi)配列：配列番号：4：

```

Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala
   1          5          10          15
Pro Pro Gly Tyr His Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Pro
   20         25          30
Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Val Val Gln Thr Leu
   35          40          45
Val Asn Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr
   50          55          60
Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu Asn Glu Lys Val
   65          70          75          80
Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Het Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg
   85          90          95

```

(2)配列番号：5C情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：102アミノ酸
 - (B)型：アミノ酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

- (vi)起源：
 - (A)生物名：キイロショウジョウバエ

- (ix)配列の特徴
 - (A)特徴を表す記号：Protein
 - (B)位置：1..101
 - (D)他の情報：／ラベル=DPP-FX

(xi)配列：配列番号：5：

```

Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asp
   1          5          10          15
Asp Trp Ile Val Ala Pro Leu Gly Tyr Asp Ala Tyr Tyr Cys His Gly
   20         25          30
Lys Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Phe Asn Ser Thr Asn His Ala
   35          40          45
Val Val Gln Thr Leu Val Asn Asn Asn Pro Gly Lys Val Pro Lys
   50          55          60
Ala Cys Cys Val Pro Thr Gln Leu Asp Ser Val Ala Met Leu Tyr Leu
   65          70          75          80
Asn Asp Gln Ser Thr Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met Thr Val
   85          90          95
Val Gly Cys Gly Cys Arg
   100

```

(2)配列番号：6C情報：

- (i)配列の特色：
 - (A)長さ：102アミノ酸
 - (B)型：アミノ酸
 - (C)鎖の数：一本鎖
 - (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(vi)起源：
(A)生物名：アフリカツメガエル

(ix)配列の特徴
(A)特徴を表す記号：Protein
(B)位置：1..102
(D)他の情報：／ラベル=VGL-FX

(xi)配列：配列番号：6：

```
Cys Lys Lys Arg His Leu Tyr Val Glu Phe Lys Asp Val Gly Trp Gln
1      5          10        15
Asn Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Met Ala Asn Tyr Cys Tyr Gly
20      25          30
Glu Cys Pro Tyr Pro Leu Thr Glu Ile Leu Asn Gly Ser Asn His Ala
35      40          45
Ile Leu Glu Thr Leu Val His Ser Ile Glu Pro Glu Asp Ile Pro Leu
50      55          60
Pro Cys Cys Val Pro Thr Lys Met Ser Pro Ile Ser Met Leu Phe Tyr
65      70          75          80
Asp Asn Asn Asp Asn Val Val Leu Arg His Tyr Glu Asn Met Ala Val
85      90          95
Asp Glu Cys Gly Cys Arg
100
```

(2)配列番号：7の情報：

(i)配列の特色：
(A)長さ：102アミノ酸
(B)型：アミノ酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(vi)起源：
(A)生物名：ネズミ科

(ix)配列の特徴
(A)特徴を表す記号：Protein
(B)位置：1..102
(D)他の情報：／ラベル=VGL-I-FX

(xi)配列：配列番号：7：

```
Cys Lys Lys His Gly Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Val Gly Trp Gln
1           5          10        15
Asp Trp Ile Ile Ala Pro Iaa Gly Tyr Ala Ala Asn Tyr Cys Asp Gly
20          25          30
Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala
35          40          45
Ile Val Glu Thr Leu Val His Val Met Asn Pro Glu Tyr Val Pro Lys
50          55          60
Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Val Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe
65          70          75          80
Asp Asp Asn Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val
85          90          95
Arg Ala Cys Gly Cys His
100
```

(2)配列番号：8の情報：

(i)配列の特色：
(A)長さ：1873塩基対
(B)型：核酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイポセティカル配列：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：
(A)生物名：ネズミ科
(F)組織の種類：胚

(ix)配列の特色

(A)特徴を表す記号：CDS
(B)位置：104..1873
(D)他の情報：／機能＝「骨形成タンパク質」
／産物＝「WOP1」
／注記＝「WOP1 (cDNA)」

(xi)配列：配列番号：8：

```
CTGCAGCAAG TGACCTCGGG CGTGTGGACCG CTGCCCTGGCC CCCTCCGGTG CCACCTGGGG
60
CGGGCGGGGC CCGGTGCCCG GGATCGCCGG TAGAGCCGG GCG ATG CAC GTG CGC
Met His Val Arg
1
TCG CTG CGC GCT GCG CCA EAC AGC TTC GTG GCG CTC TCG GCG CCT
Ser Leu Arg Ala Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala Leu Trp Ala Pro
5          10        15
CTG TTC TTG CTG CGC TCC GCC CTG GCC GAT TTC AGC CTG GAC AAC GAG
Leu Phe Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser Leu Asp Asn Glu
25          30        35
GTC CAC TCC AGC TTC ATC CAC CGG CGC CTC CGC AGC CAG GAG CGG CGG
Val His Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser Glu Glu Arg Arg
40          45        50
GAG ATG CAG CGG AGC ATC CTG TCC ATC TTA CGG TTG CCC CAT CGC CCG
Glu Met Glu Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu Pro His Arg Pro
55          60        65
CGC CGG CAC CTC CAG GGA AAC CAT AAT TCG CGG CCC ATG TTC ATG TTG
Arg Pro His Leu Glu Gly Lys His Asn Ser Ala Pro Met Phe Met Leu
70          75        80
CAC CTG TAC AAC GCC CTG GAG GAG AGC GGG CGG CCG GAC GGA CAG
Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Ser Gly Pro Asp Gly Glu
85          90        95        100
GGC TTC TCC TAC CCC TAC AAC GGC GTC TTC AGT ACC CAG GGC CCC CCT
Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr Glu Gly Pro Pro
105
TTA GCC AGC CTG CAG GAC AGC CAT TTC CTC ACT GAC GCC GAC ATG GTC
Leu Ala Ser Leu Gln Asp Ser His Phe Leu Thr Asp Ala Asp Met Val
120          125        130
ATG AGC TTC GTC AAC CTA CTG GAA CAT GAC AAA GAA TTC TTC CAC CCT
Met Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu Phe Phe His Pro
135          140        145
CGA TAC CAC CAT CGG GAG TTC CGG TTT GAT CTT TCC AAG ATC CCC GAG
Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser Lys Ile Pro Glu
150          155        160
GGC GAA CGG GTG ACC GCA GCC GAA TTC AGG ATC TAT AAG GAC TAC ATC
Gly Glu Arg Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Asp Tyr Ile
165          170        175        180
```

CGG GAG CGA TTT GAC AAC GAG ACC TTC CAG ATC ACA GTC TAT CAG GTG
Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Gln Ile Thr Val Tyr Gln Val
185 190 195
CTC CAG GAG CAC TCA GGC AGG GAG TCC GAC CTC TTC TTG CTG GAC AGC
Leu Glu His Ser Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe Leu Leu Asp Ser
200 205 210
CGC ACC ATC TCG GCT TCT GAG GAG GGC TGG TTG GTG TTT GAT ATC ACA
Arg Thr Ile Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val Phe Asp Ile Thr
215 220 225
GCC ACC AGC AAC CAC TGG GTG CTC AAC CCT CGG CAC AAC CTG GGC TTA
Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His Asn Leu Gly Leu
230 235 240
CAG CTC TCT GTG GAG ACC CTC GAT GGG CAG ACC ATC AAC CCC AAG TTG
Glu Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Glu Ser Ile Asn Pro Lys Leu
245 250 260
GCA GGC CTG ATT GGA CGG CAT GGA CCC CAG AAC AAG CAA CCC TTC ATG
Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys Gln Pro Phe Met
265 270 275
GTG GCC TTC TAC AAG GCC ACC GAA GTC CAT CTC CGT AGT ATC CGG TCC
Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Leu Arg Ser Ile Arg Ser
280 285 290
ACG GGG GCC AAG CAG CGG ACC CAC AAT CGC TCC AAG ACC CCA AAG AAC
Thr Gly Lys Glu Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys Thr Pro Lys Asn
305 300 305
CAA GAG GCC CTG AGG ATG GCC AGT GTG GCA GAA AAC AGC ACC AGT GAC
Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn Ser Ser Asp
310 315 320
CAG AGG CAG GCC AAG AAA CAT GAG CTG TAC GTC AGC TTC CGA GAC
Gln Arg Gln Ala Cys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp
325 330 340
CTT GCC TTG CAG GAC TGG ATC ATT GCA CCT GAA GGC TAT GCT GCC TAC
Leu Glu Trp Gln Asp Trp Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala Ala Tyr
345 350 355
TAC TGT GAG GGA GAG TGC GCC TTC CCT CTG AAC TCC TAC ATG AAC GCC
Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser Tyr Met Asn Ala
360 365 370
ACC AAC CAC CCC ATC GTC CAG ACA CTG GTT CAC TTC ATC AAC CCA GAC
Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe Asn Pro Asp
375 380 385

特表平7-504680 (16)

ACA CTA CCC AAG CCC TGC TGT GCG CCC ACC CAG CTC AAC GCC ATC TCT Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Glu Leu Asn Ala Ile Ser 390 395 400	1315	Pro His Arg Pro Arg Pro His Leu Glu Lys His Asn Ser Ala Pro 65 70 75 80
GTC CTC TAC TTC CAC CAC AGC TCT AAC CTG GAC CTG AAG AAC TAC AGA Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Asp Leu Lys Tyr Arg 405 410 415 420	1363	Het Phe Met Leu Asp Leu Tyr Asn Ala Met Ala Val Glu Ser Gly 65 90 95
AAC ATG GTG GTC CGG CCC TGT GGC TGC CAC TAGCTCTCC TGAGACCCCTG Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His 425 430	1413	Fro Asp Gly Glu Gly Phe Ser Tyr Pro Tyr Lys Ala Val Phe Ser Thr 100 105 110
ACCTTGGGG GGGCACACT TCCAAACTC TCCATGTC ACCATCAAG TCTCTACTG CCCACCTTG CCAGGAGAAC AGACCAACCI CTCCTGGG TCCCTCACCC TCCCAACCGG AAGCATGAA GGTTCCAGA AACCTGAGGG TGCAGGAGCT GATCAGGCCG CTTCCTCT GGCACGTCAC CGAACAGATC CTACAGCTA CCACAGCAA CGCTTAAGAG CAGGAAAAAT GTGTCGAGG AAAGCTGCCA GTGTCGACAT GCCCCCTGGC CTCTGAGTC TTGAGGAGT AAICCGAACG CTCGTTCAAGC TGCAGGAGA GGAAGGGCTT AGCCAGGGTG GCGCTGGG TCTUTGTTGA AGGGAAACCA AGCAGAACCC ACTGTAATCA TATGTACAAA TAAACCCAT GAATGAAAAA AAAAAGAAAA AAAAAGAAAA AAAAAGATTG 1833 1873	1473 1533 1593 1653 1713 1773 1833 1873	Gln Gly Pro Pro Leu Ala Ser Leu Glu Asp Ser His Phe Leu Thr Asp 115 120 125
(2)配列番号：9の情報：		Ala Asp Met Val Het Ser Phe Val Asn Leu Val Glu His Asp Lys Glu 130 135 140
(i)配列の特色： (A)長さ：430アミノ酸 (B)型：アミノ酸 (D)トポロジー：直鎖状		Phe Phe His Pro Arg Tyr His His Arg Glu Phe Arg Phe Asp Leu Ser 145 150 155 160
(ii)配列の種類：タンパク質		Lys Ile Pro Glu Gly Arg Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr 165 170 175
(xi)配列：配列番号：8：		Lys Asp Tyr Ile Arg Glu Arg Phe Asp Asn Glu Thr Phe Glu Ile Thr 180 185 190
Met His Val Arg Ser Leu Arg Ala Ala Pro His Ser Phe Val Ala 1 5 10 15		Val Tyr Gln Val Leu Glu His Ser Gly Arg Glu Ser Asp Leu Phe 195 200 205
Leu Trp Ala Pro Leu Phe Leu Leu Arg Ser Ala Leu Ala Asp Phe Ser 20 25 30		Leu Leu Asp Ser Arg Thr Ile Trp Ala Ser Glu Glu Gly Trp Leu Val 210 215 220
Leu Asp Asn Glu Val His Ser Ser Phe Ile His Arg Arg Leu Arg Ser 35 40 45		Phe Asp Ile Thr Ala Thr Ser Asn His Trp Val Val Asn Pro Arg His 225 230 235 240
Gln Glu Arg Arg Glu Met Gln Arg Glu Ile Leu Ser Ile Leu Gly Leu 50 55 60		Asn Leu Gly Leu Gln Leu Ser Val Glu Thr Leu Asp Gly Gln Ser Ile 245 250 255
		Asn Pro Lys Leu Ala Gly Leu Ile Gly Arg His Gly Pro Gln Asn Lys 260 265 270
		Gln Pro Phe Het Val Ala Phe Phe Lys Ala Thr Glu Val His Leu Arg 275 280 285
		Ser Ile Arg Ser Thr Gly Gly Lys Gln Arg Ser Gln Asn Arg Ser Lys 290 295 300
		Thr Pro Lys Asn Gln Glu Ala Leu Arg Met Ala Ser Val Ala Glu Asn 305 310 315 320
		Ser Ser Ser Asp Gln Arg Gln Ala Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val 325 330 335
		Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly 340 345 350

Tyr Ala Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asn Ser 355 360 365	
Tyr Het Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val His Phe 370 375 380	
Ile Asn Pro Asp Thr Val Pro Lys Pro Cys Cys Ala Pro Thr Gln Leu 385 390 395 400	
Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe Asp Asp Ser Ser Asn Val Asp Leu 405 410 415	
Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val Arg Ala Cys Gly Cys His 420 425 430	

(2)配列番号：10の情報：

(i)配列の特色：
(A)長さ：1723塩基対
(B)型：核酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(vi)起源：
(A)生物名：ヒト
(F)組織の種類：海馬

(ix)配列の特徴

(A)特徴を表す記号：CDS
(B)位置：490..1696
(D)他の情報：「構能＝「脊形成タンパク質」
／産物＝「hOP2-PP」
／注記＝「hOP2 (cDNA)」

(xi)配列：配列番号：10：

GGCCCGGGCA GAGCAGGACT GGCTGGAGGA GCTCTGGGTC CAGCAGGAG TGGCACGGCA CGCTGGAGG GCTCCCTATG AGTGGCGGGAG AGGGCCAGG AGGCGCTGGA GCAACAGCTC CCACACCGCA CCAACCGCTG GCTGAGGAG CTGGCCCATC GCGCTGGCGC TGCTGGACC GGGGCCACAG CGGGACTGGG GGGTACGGG GCGACAGAGG CATGGCCGA GAGGCCAGT CCGCAACTA GCGCCGGCTCT CGAGGGGGTG GCGCTCCGGT GCTCTGGTC CAGGAGCCAG CACAGGTGTC GCGGGGGGGG GCTCCAGGGA CGGGCCCTGA GCGGGGGTGC CGGGGGTCC CGGGGGGGCC CGGGGGGGGG CGGGGGGGCGA GCGGGGGCTCG CTTGGGGTCC	60 120 180 240 300 360 420
---	----------------------------

AGGGCCCTGGG TCGGGCGGGG AGCCGATGCG CGCCCGCTGA CGGGCCCGAG TGAGCGCCCC CGGCCCTGCC ATG ACC GCG CTC CCC GGC CCG CTC TGG CTC CTG GGC CTG Het Thr Ala Leu Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu 1 5 10	480 528
GCG CTA TGC GCG CTG GGC GGG GGC GGC CCC GGC CTG CCA CCC CCC CCC Ala Leu Cys Ala Leu Gly Gly Gly Pro Gly Leu Arg Pro Pro Pro 15 20 25	576
GCG TGT CCC CAG CCA CGT CTG GGC GCG CAG CCC CGG GAC CTG CAG Gly Cys Pro Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Arg Asp Val Gln 30 35 40	624
CGC CAG ATC CTG GCG CTG GGC CTG CCT GGG CCC CGG CCC GGC GGC Arg Glu Ile Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Arg 50 55 60	672
GCG CCA CGC GGC TCC CGG CTG CCC GGC TCC GGG CCC CTC TTC ATG Ala Pro Pro Ala Ala Ser Arg Leu Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Met 65 70 75	720
CTG GAC CTG TAC CAC GCC ATG GGC GGC GAC GAC GAG CAC GGC GGG Leu Asp Leu Tyr His Ala Met Ala Gly Asp Asp Asp Glu Asp Gly Ala 80 85 90	768
CCT CCC GAG CGG CGC CTG GGC CCC GGC GAC CTG CTG ATG ACC TTC GTC Pro Ala Glu Arg Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met Ser Phe Val 95 100 105	816
AAC ATG GTG GAG CCA GAC CGT GGC CTG GGC CAC CAG CAG CCC CAT TGG Asn Met Val Glu Arg Asp Arg Ala Leu Gly His Gln Glu Pro His Trp 110 115 120 125	864
AAG GAG TTC CCC TTT GAC CTG ACC CAG ATC CGG GTC GGG CAG CGC GTC Lys Glu Phe Arg Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val 130 135 140	912
ACA GCT CGG GAG TTC CGG ATT TAC AAG CTG CCC AGC ATC CAC CTG CTC Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Val Pro Ser Ile His Leu Leu 145 150 155	960
AAC AGG ACC CTC CAC GTC AGC ATG TTC CAG CTG CTC CAG CAG CTC Asn Arg Thr Leu His Val Ser Met Phe Glu Val Val Glu Gln Ser 160 165 170	1008
AAC AGG CAG TCT GAC TTG TTC CAT CTT CAG ACG CTC CGA GCT Asn Arg Glu Ser Asp Leu Phe Phe Asp Leu Asp Gln Thr Leu Arg Ala 175 180 185	1056

特表平7-504680 (17)

GGA GAC GAG GGC TGG CTG CTG GAT GTC ACA GCA GCC AGT GAC TGC Gly Asp Glu Gly Trp Leu Val Leu Asp Val Thr Ala Ala Ser Asp Cys 190 195 200 205	1104	GCC TGC GCC TGC CAC T GAGTCAGCCC GCCCAGCCCT ACTGGAG Ala Cys Gly Cys His 400	1723
TGG TTG CTG AAG CGT CAC AAG GAC CTG GGA CTC CGG CTC TAT GTG GAG Trp Leu Leu Lys Arg His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu 210 215 220 225	1152	(2)配列番号 : 11の情報 :	
ACT GAG GAC GGG CAC ACC GTG GAT CCT GGC CTG CGG GGC CTG CTG GGT Thr Glu Asp Gly His Ser Val Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly 225 230 235	1200	(i)配列の特色 : (A)長さ : 1926塩基対 (B)型 : 核酸 (C)鎖の数 : 一本鎖 (D)トポロジー : 直鎖状	
CAA CGG GCC CCA CGG TCC CAA CAC CCT TTC GTG GTC ACT TTC TIC AGG Gln Arg Ala Pro Arg Ser Gln Gln Pro Phe Val Val Thr Phe Phe Arg 240 245 250	1248	(ii)配列の種類 : タンパク質	
GCC ACT CGG CCG ATC CGC ACC CCT CGG GCA GTG AGG CCA CTG AGG Ala Ser Pro Ser Pro Ile Arg Thr Pro Arg Ala Val Arg Pro Leu Arg 255 260 265	1296	(xi)配列 : 配列番号 : 11 :	
AGG AGG CGG CGG AAG AAA AAC AAC GAG CTG CGG CGG AAC CGA CTC Arg Arg Gln Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu Pro Gln Ala Asn Arg Leu 270 275 280 285	1344	Met Thr Ala Leu Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Ala Leu Cys 1 5 10 15	
CCA CGG ATC TTT GAT GAC GTC CAC GGC TCC CAC GGC CGG CAG GTC TGC Pro Gly Ile Phe Asp Asp Val His Gly Ser His Gly Arg Gln Val Cys 290 295 300	1392	Ala Leu Gly Gly Gly Pro Gly Leu Arg Pro Pro Gly Cys Pro 20 25 30	
CGT CGG CAC GAG CTC TAC GTC AGC CAG GAC CTC CGG TGG CTG GAC Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Leu Asp 305 310 315	1440	Glo Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Arg Asp Val Gln Arg Glu Ile 35 40 45	
TGG GTC ATC GCT CCC CAA TAC TCG TCC TAT TAC TGT CAG GGG GAG Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Gly Glu 320 325 330	1488	Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Ala Pro Pro 50 55 60	
TGC TCC TTC CCA CTG TCC TGC ATG AAT GCC ACC AAC CAC GCC ATC Cys Ser Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile 335 340 345	1536	Ala Ala Ser Arg Leu Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu 65 70 75 80	
CTG CAG TCC CTG GTG CAC CTG ATG AAG CCA AAC GCA GTC CCC AAC GCG Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met Lys Pro Asn Ala Val Pro Lys Ala 350 355 360 365	1584	Tyr His Ala Met Ala Gly Asp Asp Glu Asp Gly Ala Pro Ala Glu 85 90 95	
TGC TGT GCA CCC ACC AAC CTG AGC GCC ACC TCT GTG CTC TAC TAT GAC Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp 370 375 380	1632	Arg Arg Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met Ser Phe Val Asn Met Val 100 105 .. 110	
AGC AGC AAC AAC GTC ATC CTG CGG AAA GCC CGC AAC ATG GTG GTC AAG Ser Ser Asn Val Ile Leu Arg Lys Ala Arg Asn Met Val Val Lys 385 390 395	1680	Glu Arg Asp Arg Ala Leu Gly His Gln Glu Pro His Trp Lys Glu Phe 115 120 125	
Gly Trp Leu Val Leu Asp Val Thr Ala Ala Ser Asp Cys Trp Leu Leu 195 200 205	180	Arg Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Gly Glu Ala Val Thr Ala Ala 130 135 140	
Lys Arg His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Gln Thr Glu Asp 210 215 220	185	Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Val Pro Ser Ile His Leu Leu Asn Arg Thr 145 150 155 160	
Gly His Ser Val Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Gln Arg Ala 225 230 235 240	190	Leu His Val Ser Met Phe Gln Val Val Gln Glu Gln Ser Asn Arg Glu 165 170 175	
Pro Arg Ser Gln Gln Pro Phe Val Val Thr Phe Phe Arg Ala Ser Pro 245 250 255	195	Ser Asp Leu Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ala Gly Asp Glu 180 185 190	

Gly Trp Leu Val Leu Asp Val Thr Ala Ala Ser Asp Cys Trp Leu Leu
195 200 205

Lys Arg His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Gln Thr Glu Asp
210 215 220

Gly His Ser Val Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Gln Arg Ala
225 230 235 240

Pro Arg Ser Gln Gln Pro Phe Val Val Thr Phe Phe Arg Ala Ser Pro
245 250 255

Ser Pro Ile Arg Thr Pro Arg Ala Val Arg Pro Leu Arg Arg Gln
260 265 270

Pro Lys Lys Ser Asn Glu Leu Pro Gln Ala Asn Arg Leu Pro Gly Ile
275 280 285

Phe Asp Asp Val His Gly Ser His Gly Arg Gln Val Cys Arg Arg His
290 295 300

Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile
305 310 315 320

Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ser Phe
325 330 335

Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Gln Ser
340 345 350

Leu Val His Leu Met Lys Pro Asn Ala Val Pro Lys Ala Cys Cys Ala
355 360 365

Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn
370 375 380

Asn Val Ile Leu Arg Lys Ala Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly
385 390 395 400

Cys His

(2)配列番号 : 12の情報 :

- (i)配列の特色 :
 - (A)長さ : 1926塩基対
 - (B)型 : 核酸
 - (C)鎖の数 : 一本鎖
 - (D)トポロジー : 直鎖状

(vi)起源 :

- (A)生物名 : ネズミ科
- (F)組織の種類 : 脳

(ix)配列の特徴

- (A)特徴を表す記号 : CDS
- (B)位置 : 83..1289
- (D)他の情報 : /機能 = 「骨形成タンパク質」
/産物 = 「mOP2-PP」
/注記 = 「mOP2 (cDNA)」

(xi)配列 : 配列番号 : 12 :

GCCAGGACACA GGTCGGCGGT CTGGTCCTCC CGCTCTGGCG TCAGCCGAGC CGGACCCGCT	60
ACCACTGGAT GCGCCGCCGGC TGAAAGTCGG AG ATG GCT ATG CGT CCC GGG CCA Met Ala Met Arg Pro Gly Pro 1 5	113
CTC TGG CTA TTG GCG CTT GGT CTG TCC GCG CTG CGA GGC GGC CAC GGT Leu Trp Leu Gly Leu Ala Leu Cys Ala Leu Gly Gly His Gly 10 15 20	161
CCG CGT CCC CGC CAC ACC TGT CCC CAG CGT CGC CTG CGA GCG CCG GAG Pro Arg Pro Pro His Thr Cys Pro Gln Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu 25 30 35	209
CCG CGC GAC ATG CAG CGT GAA ATC CTG GCG CTG CTC GGG CTA CGG GGA Arg Arg Asp Met Gln Arg Glu Ile Leu Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly 40 45 50 55	257
CGC CCC CGA CCC CGT GCA CAA CGC GGT CCC CGG CAG CCA GCG TCC Arg Pro Arg Pro Arg Ala Gln Pro Ala Ala Arg Gln Pro Ala Ser 60 65 70	305
GCG CCC GTC ITG ATG GAC CTA TAC CAC GGC ATG ACC GAT GAC GAC Ala Pro Leu Phe Met Leu Asp Leu Tyr His Ala Het Thr Asp Asp Asp 75 80 85	353
GAC GGC GGC CCA CAG GCT CAC TTA CGC CGT GGC GAC CTG GTC ATG Asp Gly Gly Pro Pro Gln Ala His Leu Gly Arg Ala Asp Leu Val Met 90 95 100	401
AGC TTC GTC AAC ATG GTG GAA CGC CAC CGT ACC CTG GGC TAC CAG GAG Ser Phe Val Asn Met Val Glu Arg Asp Arg Thr Leu Gly Tyr Gln Glu 105 110 115	449
CCA CAC TGG AAG GAA TTC CAC TTT GAC CTA ACC CAG GAC ATC CCT GCT GGG Pro His Trp Lys Glu Phe His Phe Asp Leu Thr Gln Ile Pro Ala Glu 120 125 130 135	497
GAG GCT GTC ACA GCA GCT GCT GAG TAC CGG ATC TAC AAA GAA CCC AGC ACC Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg Ile Tyr Lys Glu Pro Ser Thr 140 145 150	545

特表平7-504680 (18)

CAC CGG CTC AAC ACA ACC CTC CAC ATC AGC ATG TTC GAA GTG GTC CAA His Pro Leu Asn Thr Thr Leu His Ile Ser Met Phe Glu Val Val Gln 155 160 165	593	CCC AAG GCA TGC TGT GCA CCC ACC CTG AGT GCC ACC TCT GTG CTG Pro Lys Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu 360 365 370 375	1217
GAG CAC TCC AAC AGG GAG TCT GAC TTG TTC TTT TTG GAT CTT CAG AGC Glu His Ser Asn Arg Glu Ser Asp Leu Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr 170 175 180	641	TAC TAT GAC AGC AGC AAC AAT GTC ATC CTG CGT AAA CAC CGT AAC ATC Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Arg Lys His Arg Asn Het 380 385 390 395	1265
CTC GGA TCT GGG GAC GAG GGC TTG CTG CTG GAC ATC ACA GCA GGC Leu Arg Ser Gly Asp Glu Gly Asp Leu Val Leu Asp Ile Thr Ala Ala 185 190 195	689	GTG GTC AAC GGC TGT GGC TCC CAC TGAGGCCCG CCCAGCATCC TCCCTCTACT Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His 395	1319
AGT CAC CCA TGG CTG CTG AAC CAT CAC AAG CAC CTG GGA CTC CGC CTC Ser Asp Arg Trp Leu Asn His His Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu 200 205 210 215	737	ACCTTACCAT CTGGCCGGGC CGGTCTCACAG AGGGAGAAC CCTCTGATGT TATCATAGCT CAGACAGGGG CAATGGGAGG CCCTCTACACT CCCCTGGCCA CTTCCTGCTA AAATCTGGT 1439	1379
TAT GTG GAA ACC GGG GAT GGG GAC AGC ATG GAT CCT GGC CTG GCT GGT Tyr Val Glu Thr Ala Asp Gly His Ser Met Asp Pro Gly Leu Ala Gly 220 225 230	785	CTTCTCCAGT TCCCTCTGTC TTCACTGGGT TTGGGGGCTA TCACCCGCC CTCTCCATCC TCCTACCCCA ACCATAGACT GAATGACAC AGCATCCCCAG AGCTATGCTA ACTGAGAGT 1559	1439
CTG CTC GGA CGA CAA GCA CCA CGC TCC AGA CAG CCT TTC ATG GTA ACC Leu Leu Gly Arg Gln Ala Pro Arg Ser Arg Gln Pro Phe Met Val Thr 235 240 245	833	CTGGGCTAG CACTGAAGC CCACATAGG AAGACTGATC CTGGCCATC CTACGCCAC AAATGGAAAT TCTGGATGTT CTAAGAAGGC CCTGGAAATC TAAACTAGAT GATCTGGGT 1679	1619
TTC TTC AGG GCC AGC CAG AGT CCT CTG CCG GCC CCT CGG GCA GGC AGA Phe Phe Arg Ala Ser Gln Ser Pro Val Arg Ala Pro Arg Ala Ala Arg 250 255 260	881	CTCTGACCA TTCAATTGIGG CAGTTGGAC AITTTTAGGT ATAACAGACA CATAACCTA GATCAATCCA TCGCTGTAGT CCTCTGAAATC AGAGCTAGCT TGTAGAAAA AGAACAGAG 1739	1739
CCA CTG AAG AGG AGG CAG CCA AAG AAA ACG AAC GAG CTC CCC CAC CCC Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Thr Asn Glu Leu Pro His Pro 265 270 275	929	CCAGGTTAG CGGTGATGT CATTAAATCC AGGGCTAAAG AGACAGAGC AGGAGAATCT CTTGAGTTG AAGGCCACAT AGAAAACGCC TGTCCTGGCA GCAGGAAAAA AAAAAAAAC 1919	1919
AAC AAA CTC CCA GGG ATC TTT GAT GAT GGC CAC GGT TCC CGC GGC AGA Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp Gly His Gly Ser Arg Gly Arg 280 285 290 295	977	GGAATTC (2)配列番号: 13の情報: (i)配列の特色: (A)長さ: 399アミノ酸 (B)型: アミノ酸 (D)トポロジー: 蛍鏡状	1926
GAG GTT TGC CGC AGG CAT GAG CTC TAC GTC ACC TTC CGT CAC CTT CGC Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly 300 305 310	1025	(ii)配列の種類: タンパク質 (xi)配列: 配列番号: 13: Met Ala Met Arg Pro Gly Pro Leu Trp Leu Leu Gly Leu Ala Leu Cys 1 5 10 ... 15 Ala Leu Gly Gly His Gly Pro Arg Pro Pro His Thr Cys Pro Gln 20 25 30	1025
TGG CTG GAC TGG GTC ATC CCC CAG GGC TAC TCT TGT GGC TAT TAC TGT Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys 315 320 325	1073	Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asp 325 330 335 340	1073
GAG GGG CAG TGT GCT TTC CCA CTG GAC TCC TGT ATG AAC GCC ACC AAC Glu Gly Cys Ala Phe Pro Leu Asp Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn 330 335 340	1121	Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His 340 345 350	1121
CAT GCC ATC TTG CAG TCT CTG GTC CAC CTG ATG AAG CCA GAT GTT GTC His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His Leu Met His Pro Pro Val Val 345 350 355	1169	Leu Met Pro Asp Val Val Pro Leu Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys 355 360 365	1169

Arg Arg Leu Gly Ala Arg Glu Arg Arg Asp Met Gln Arg Glu Ile Leu
35 40 45
Ala Val Leu Gly Leu Pro Gly Arg Pro Arg Pro Ala Gln Pro Ala
50 55 60
Ala Ala Arg Gln Pro Ala Ser Ala Pro Leu Phe Het Leu Asp Leu Tyr
65 70 75 80
His Ala Met Thr Asp Asp Asp Gly Cys Pro Pro Gln Ala His Leu
85 90 95
Gly Arg Ala Asp Leu Val Het Ser Phe Val Asn Met Val Glu Arg Asp
100 105 110
Arg Thr Leu Gly Tyr Gln Glu Pro His Trp Lys Glu Phe His Phe Asp
115 120 125
Leu Thr Gln Ile Pro Ala Cys Glu Ala Val Thr Ala Ala Glu Phe Arg
130 135 140
Ile Tyr Lys Glu Pro Ser Thr His Pro Leu Asn Thr Thr Leu His Ile
145 150 155 160
Ser Met Phe Glu Val Val Gln Glu His Ser Asn Arg Glu Ser Asp Leu
165 170 175
Phe Phe Leu Asp Leu Gln Thr Leu Arg Ser Gly Asp Glu Cys Trp Leu
180 185 190
Val Leu Asp Ile Thr Ala Ala Ser Asp Arg Trp Leu Leu Asn His His
195 200 205
Lys Asp Leu Gly Leu Arg Leu Tyr Val Glu Thr Ala Asp Gly His Ser
210 215 220
Met Asp Pro Gly Leu Ala Gly Leu Leu Gly Arg Gln Ala Pro Arg Ser
225 230 235 240
Arg Gln Pro Phe Met Val Thr Phe Arg Ala Ser Gln Ser Pro Val
245 250 255
Arg Ala Pro Arg Ala Ala Arg Pro Leu Lys Arg Arg Gln Pro Lys Lys
260 265 270
Thr Asn Glu Leu Pro His Pro Asn Lys Leu Pro Gly Ile Phe Asp Asp
275 280 285
Gly His Gly Ser Arg Gly Arg Glu Val Cys Arg Arg His Glu Leu Tyr
290 295 300
Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Leu Asp Trp Val Ile Ala Pro Gln
305 310 320

Gly Tyr Ser Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly Glu Cys Ala Phe Pro Leu Asp
325 330 335 340

Ser Cys Met Asn Ala Thr Asn His Ala Ile Leu Gln Ser Leu Val His
340 345 350

Leu Met Lys Pro Asp Val Val Pro Leu Ala Cys Cys Ala Pro Thr Lys
355 360 365

Leu Ser Ala Thr Ser Val Leu Tyr Tyr Asp Ser Ser Asn Asn Val Ile
370 375 380

Leu Arg Lys His Arg Asn Met Val Val Lys Ala Cys Gly Cys His
385 390 395

(2)配列番号: 14の情報:

(i)配列の特色:

(A)長さ: 1260塩基対
(B)型: 核酸

(C)碱の数: 一本鎖

(D)トポロジー: 直鎖状

(ii)配列の種類: cDNA

(iii)ハイポセティカル配列: NO

(iv)アンチセンス: NO

(vi)起源:
(A)生物名: ヒト

(ix)配列の特徴:

(A)特徴を表す記号: CDS
(B)位置: 9...1195

(D)他の情報: /機能=「骨形成タンパク質」-

/産物=「BMP2A」

/注記=「BMP2A (cDNA)」

(xi)配列: 配列番号: 14:

GGTCCGACC ATG GTG GGC GGG ACC CGG TGT CTT CTA GCG TTG CTG CTT CCC
Her Val Ala Gly Thr Arg Cys Leu Leu Ala Leu Leu Pro
1 5 10

CAG GTC CTC CTG GGC GGG GCT GGC CTC GTT CCG GAG CTG GGC GGC
Gln Val Leu Leu Gly Gly Ala Ala Gly Leu Val Pro Glu Leu Gly Arg
15 20 25 30

特表平7-504680 (19)

GAC GAG GTC CTG AGC GAG TTC GAG ITG CGG CTG CTC ACC ATG TTC GGC Asp Glu Val Leu Ser Glu Phe Leu Arg Leu Leu Ser Met Phe Gly	194	GTC TCC AAG AGA CAT GTT AGG ATA AGC AGG TCT TTG CAC CAA GAT GAA Val Ser Lys Arg His Val Arg Ile Ser Arg Ser Leu His Glu Asp Glu	770
50 55 60	40 45	240 245 250	
GTC AAA CAG AGA CCC ACC CCC AGC AGG GAC GCC GTG GTG CCC CCC TAC Leu Lys Glu Arg Pro Thr Pro Ser Arg Asp Ala Val Val Pro Pro Tyr	242	CAC ACC TCG TCA CAG ATA AGG CCA TTG CTA GTA ACT TTT GGC CAT GAT His Ser Trp Ser Glu Ile Arg Pro Leu Leu Val Thr Phe Gly His Asp	818
65 70 75	75	255 260 265 270	
ATG CTA GAC CTG TAT CGC AGG CAC TCG GGT CAG CGG GCC TCA CCC GGC Met Leu Asp Leu Tyr Arg Arg His Ser Glu Gln Pro Gly Ser Pro Ala	290	GGA AAA GGG CAT CCT CTC CAC AAA AGA GAA AAA CGT CAA CCC AAA CAC Gly Lys Gly His Pro Leu Mis Lys Arg Glu Lys Arg Glu Ala Lys His	866
80 85 90	85 90	275 280 285	
CCA GAC CAC CGG TTG GAG AGG GCA GCC AGC CGA GCC AAC ACT GTG CGC Pro Asp His Arg Leu Glu Arg Ala Ala Ser Arg Ala Asn Thr Val Arg	338	AAA CAG CGG AAA CGC GTT AAG TCC AGC IGT AAG AGA CAC CCT TTG TAC Lys Glu Arg Lys Arg Leu Lys Ser Ser Cys Lys Arg His Pro Leu Tyr	914
95 100 105	100 105 110	290 295 300	
AGC TTC CAC CAT GAA GAA TCT TTG GAA GAA CTA CCA GAA ACG ACT GGG Ser Phe His Glu Glu Ser Leu Glu Glu Leu Pro Glu Thr Ser Gly	386	GTC GAC TTC AGT GAC CTG GGG TGG ATT GAC TGG ATT GTG GCT CCC CGG Val Asp Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro	962
115 120 125	120 125	305 315	
AAA ACA ACC CGG AGA TTC TTC TTT AAT TTA AGT TCT ATC CCC ACG GAG Lys Thr Thr Arg Arg Phe Phe Phe Asn Leu Ser Ser Ile Pro Thr Glu	434	GCG TAT CAC GCC TTT TAC TGC CAC CGA GAA TGC CCT TTI CCT TTG GCT Gly Tyr His Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Pro Leu Ala	1010
130 135 140	135 140	320 325 330	
GAG TTT ATC ACC TCA GCA GAG CTT CAG TTG TTC CGA GAA CAG ATG CAA Glu Phe Ile Thr Ser Ala Glu Leu Glu Val Phe Arg Glu Glu Met Glu	482	GAT CAT CTG AAC TCC ACT AAT CAT GCC ATT GTT CAG ACG ITG GTC AAC Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile Val Glu Thr Leu Val Asn	1058
145 150 155	150 155	335 340 345 350	
GAT GCT TTA GGA AAC AAT AGC AGT TTC CAT CAC CGA ATT AAT ATT TAT Asp Ala Leu Glu Asn Asn Ser Ser Phe His His Arg Ile Asn Ile Tyr	530	TCT GTT AAC TCT AAG ATT CCT AAC GCA TGC TGT CTC CGG ACA GAA CTC Ser Val Asn Ser Lys Ile Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu	1106
160 165 170	165 170	355 360 365	
GAA ATC ATA AAA CCT GCA ACA GCC AAC TCG AAA-ITC CCC GTG ACC AGT Glu Ile Ile Lys Pro Ala Thr Ala Asn Ser Lys Phe Pro Val Thr Ser	578	AGT GCT ATC TCG ATG CTG TAC CTT GAC GAG AAT GAA AAG GTT CTA TTA Ser Ala Ile Ser Het Tyr Leu Asp Glu Asn Glu Lys Val Val Leu	1154
175 180 185	180 185	370 375 380	
CTT TTG GAC ACC AGG TTG GTG AAT CAG AAT CGA GCA AGC AGG TGG GAA ACT Leu Leu Asp Thr Arg Leu Val Asn Glu Asn Ala Ser Arg Trp Glu Ser	626	AAG AAC TAT CAG GAT ATG GTT GTG GAG GGT TGT CGG TGT CGC Lys Asn Tyr Glu Asp Met Val Val Glu Gly Cys Cys Arg	1196
195 200 205	200 205	385 390 395	
TTT GAT CTC ACC CCC GCT GTG ATG CGG TGG ACT GCA CAG CGA CAC GCC Phe Asp Val Thr Pro Ala Val Met Arg Trp Thr Ala Glu Gly His Ala	674	TACTACAGCA AAATTAATAA CATAAATATA TATATATATA TATATTITAG AAAAAAGAAA	1256
210 215 220	215 220		
AAC CAT GGA TTC GTG GTG GAA GTG GCC CAC TTG GAG CAG AAA CAA CGT Asp His Glu Phe Val Val Glu Val Ala His Leu Glu Glu Lys Glu Glu	722	AAAA	1260
225 230 235	230 235		
(2)配列番号：15の情報：			
(i)配列の特色：			
(A)長さ：398アミノ酸			
(B)型：アミノ酸			
(D)トポロジー：直鎖状			

(ii)配列の種類：タンパク質

(xi)配列：配列番号：15：

Het Val Ala Gly Thr Arg Cys Leu Leu Ala Leu Leu Pro Gln Val
 1 5 10 15
 Leu Leu Gly Gly Ala Ala Gly Leu Val Pro Glu Leu Gly Arg Arg Lys
 20 25 30
 Phe Ala Ala Ala Ser Ser Gly Arg Pro Ser Ser Gln Pro Ser Asp Glu
 35 40 45
 Val Leu Ser Glu Phe Glu Leu Arg Leu Leu Ser Met Phe Gly Leu Lys
 50 55 60
 Gln Arg Pro Thr Pro Ser Arg Asp Ala Val Val Pro Pro Tyr Met Leu
 65 70 75 80
 Asp Leu Tyr Arg Arg His Ser Gly Gln Pro Gly Ser Pro Ala Pro Asp
 85 90 95
 His Arg Leu Glu Arg Ala Ala Ser Arg Ala Asn Thr Val Arg Ser Phe
 100 105 110
 His His Glu Glu Ser Leu Glu Glu Leu Pro Glu Thr Ser Gly Lys Thr
 115 120 125
 Thr Arg Arg Phe Phe Phe Asn Leu Ser Ser Ile Pro Thr Glu Glu Phe
 130 135 140
 Ile Thr Ser Ala Glu Leu Gln Val Phe Arg Glu Gln Met Gln Asp Ala
 145 150 155 160
 Leu Gly Asn Asn Ser Ser Phe His His Arg Ile Asn Ile Tyr Glu Ile
 165 170 175
 Ile Lys Pro Ala Thr Ala Asn Ser Lys Phe Pro Val Thr Ser Leu Leu
 180 185 190
 Asp Thr Arg Leu Val Asn Gln Asn Ala Ser Arg Trp Glu Ser Phe Asp
 195 200 205
 Val Thr Pro Ala Val Met Arg Trp Thr Ala Gln Gly His Ala Asn His
 210 215 220
 Gly Phe Val Val Glu Val Ala His Leu Glu Glu Lys Gln Gly Val Ser
 225 230 235 240
 Lys Arg His Val Arg Ile Ser Arg Ser Leu His Gln Asp Glu His Ser
 245 250 255

Trp Ser Gln Ile Arg Pro Leu Leu Val Thr Phe Gly His Asp Gly Lys
260 265 270

Gly His Pro Leu His Lys Arg Glu Lys Arg Gln Ala Lys His Lys Gln
275 280 285

Arg Lys Arg Leu Lys Ser Ser Cys Lys Arg His Pro Leu Tyr Val Asp
290 295 300

Phe Ser Asp Val Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr
 305 310 315 320

His Ala Phe Tyr Cys His Gly Glu Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His

Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val Asn Ser Val

Arg-Ser-Lys-Ile-Pro-Lys-Ala-Gly-Gly-Val-Pro-Thr-Glu-Leu-Ser-Ala

355 360 365

370 375 380

Tyr Gln Asp Met Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg
385 390 395

(2)配列番号：16の情報：

(i)配列の特色：
(A)長さ：574塩基対

(B)型：核鎮
(C)鎮の数：一本鎮

(6) ドボロシー：置類状

(11) 著作権: genuine.htm

(A)生物名：ヒト

(ix)配列の特徴
　(A)特徴を表す記号：CDS

(B)位置: L-327
(D)他の情報: / 産物 = 「成熟hBMP3(部分)」

ノ注記=1成熟ヒトBMP3タンパク質のこの部分配列は保守的で、
のシステイン骨格の最初の3個のシステインを含む。102個の

端配列 (CBF4) に関する米国特許第5,871,631号を参照され

(A)特徴を表す記号: intron
(B)位置: 229-574

特表平7-504680 (20)

(xi)配列：配列番号：16：

CGA GCT TCT AAA ATA GAA TAC CAC TAT AAA AAG GAT CAG GTG TGG GAG
Arg Ala Ser Lys Ile Glu Tyr Glu Tyr Lys Lys Asp Glu Val Trp Glu
1 5 10 15

48

CAG AGA AAG CCT TAC AAC ACC CTT CAG GGC TCA GCC CCT GAA AAG AGT
Glu Arg Lys Pro Tyr Lys Thr Leu Glu Gly Ser Gly Pro Glu Lys Ser
20 25 30

96

AAG AAT AAA AAC AAA CAG AGA AAG GGG CCT CAT CGG AAC AGC CAG ACG
Lys Asn Lys Lys Glu Arg Lys Gly Pro His Arg Lys Ser Glu Thr
35 40 45

144

CTG CAA TTT GAT GAG CAG ACC CTC AAA AAG GCA AGG AGA AAG CAG TGG
Leu Glu Phe Asp Glu Glu Thr Leu Lys Ala Arg Arg Lys Glu Trp
50 55 60

192

ATT GAA CCT CGG AAT TCC GGC AGG AGA TAC CTC AAG GIA GAC TTT GCA
Ile Glu Pro Arg Asn Cys Ala Arg Arg Tyr Leu Lys Val Asp Phe Ala
65 70 75 80

240

GAT ATT GGC TGG AGT GAA TGG ATT ATC TCC CCC AAG TCC TTT GAT GCC
Asp Ile Gly Trp Ser Glu Trp Ile Ile Ser Pro Lys Ser Phe Asp Ala
85 90 95

288

TAT TAT TGC TCT GGA GCA TCC CAG TTC CCC ATG CCA AAC GTAGGCCATTG
Tyr Tyr Cys Ser Gly Ala Cys Glu Phe Pro Met Pro Lys
100 105

337

TTCTCTGTCC TGACTTACT TCCTATTTCG ATTAGTAGAA AGCACACATG ACTAACATTG

397

TGIGCATATA GGGGGTTTGT GTAAGTGTTT TGTTTCCAT TTGCAAAATC CATGGGACC

457

CTTATTACT ACATTTCAA CCATAATAGG TAATATGGT ATTCTTGGTT TCTGTAAAT

517

GTTTGTAAA GTCATATGAA GTCAAGTATG CTATAAAGAA CGGATATGAGA AAAAAAA

574

(2)配列番号：17の情報：

(i)配列の特色：

- (A)長さ：108アミノ酸
- (B)型：アミノ酸
- (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(xi)配列：配列番号：17：

Arg Ala Ser Lys Ile Glu Tyr Glu Tyr Lys Lys Asp Glu Val Trp Glu
1 5 10 15

Glu Arg Lys Pro Tyr Lys Thr Leu Glu Gly Ser Cys Pro Glu Lys Ser
20 25 30

Lys Asn Lys Lys Glu Arg Lys Cys Pro His Arg Lys Ser Glu Thr
35 40 45

Leu Glu Phe Asp Glu Glu Thr Leu Lys Ala Arg Arg Lys Glu Trp
50 55 60

Ile Glu Pro Arg Asn Cys Ala Arg Arg Tyr Leu Lys Val Asp Phe Ala
65 70 75 80

Asp Ile Gly Trp Ser Glu Trp Ile Ile Ser Pro Lys Ser Phe Asp Ala
85 90 95

Tyr Tyr Cys Ser Gly Ala Cys Glu Phe Pro Met Pro Lys
100 105

(2)配列番号：18の情報：

(i)配列の特色：

- (A)長さ：178塩基対
- (B)型：核酸
- (C)塗の数：一本鎖
- (D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：cDNA

(iii)ハイポセティカル配列：NO

(iv)アンチセンス：NO

(vi)起源：

- (A)生物名：ヒト
- (F)組織の種類：海馬

(ix)配列の特徴

- (A)特徴を表す記号：CDS
- (B)位置：403..1626
- (C)配列を決定した方法：E（実験による）
- (D)他の情報：／機能＝「骨形成タンパク質」
／産物＝「BMP2B」
／組織＝実験による
／法RC＝「BMP2P (cDNA)」

(xi)配列：配列番号：18：

GAATTCGGGG CAGAGGGAGGA GGGAGGGAGG GAAGGAGGCC GGAGCCCCGG CGCGGAAGCTA

60

GGTGACTGIG GCATCCGAGC TGAGGGAGCC GACCCCTAGA CGCCGCTGCT CCTCGGGCTG

120

AGTATCTAGC TTGCTCCCC GATGGGATTG CGCTCCAACC TATCTCCAGC CTGCAGEGCC

180

ACAGTCCCCC CCCTCTCCCC ACCTTCACTC CAACCGTICA GAGGTCCCCA GGAGCTGCTG
CTGGCGACCC CCCTACTGCA GGAGCTATG GACCCATTCG CTAGTCCCCAT CCCGACCAAC
GCACCTCTGC AGCTTCCCTC ACCCTTTCGA GCAAGTTGT TCAACATGG CTGTCAGAA
TCATGGACTG TTAATATAG CCTTGTGTTTC TGTCAGAAC CC ATG ATT CCT CGT
Met Ile Pro Gly
1

240

AAC CGA ATG CTC ATG GTC GTT TTA TTA TGC CAA GTC CTC CAA CGA GGC
Asn Arg Met Leu Met Val Val Leu Cys Glu Val Leu Leu Gly Gly
5 10 15 20

300

GGG AGC CAT GCT AGT TIC ATA CCT CAG AGC GGG AAA AAA GTC GCC
Ala Ser His Ala Ser Ile Pro Glu Thr Gly Lys Lys Val Ala
25 30 35

360

GAG ATT CAG GGC CAC GCA GGA CGG CCC TCA CGG CAG ACC CAT GAG
Glu Ile Glu His Ala Cys Gly Arg Ser Gly Cys Ser His Glu
40 45 50

414

CTC CTG CGG CAC TTC GAG GGG ACA CTT CTG CAG ATG TTT GGG CTG CGC
Leu Leu Arg Pro Phe Ala Thr Leu Leu Glu Met Phe Glu Leu Arg
55 60 65

462

CCC CGC CGC CCT AGC AGG AGC CCT ATT CCG CAC TAC ATC CGG
Arg Arg Pro Glu Pro Ser Lys Ser Ala Val Ile Pro Asp Tyr Met Arg
70 75 80

510

GAT CTT TAC CCG CTT CAG TGT GGC CAG CAG GAA CAG CAG ATC CAC
Asp Leu Tyr Arg Leu Glu Ser Cys Glu Glu Glu Cln Ile His
85 90 95 100

558

AGC ACT GGT CTT GAC TAT CCT GAG CGC CGC AGC CGG AAC ACC
Ser Thr Gly Leu Glu Pro Glu Arg Pro Ala Ser His Asn Thr
105 110 115

606

GTG AGG AGC CAC CAC GAA GAA CAT CTG GAG AAC ATC CCA CGG ACC
Val Arg Ser His His Glu Glu His Leu Glu Asn Ile Pro Gly Thr
120 125 130

654

AGT GAA AAC TCT GCT TTT CGT TTC CTC TTT AAC CTC AGC AGC ATC CCT
Ser Glu Asn Ser Ala Phe Arg Phe Leu Asn Leu Ser Ser Ile Pro
135 140 145

702

CAG AAC CAG GTG ATC TCC TCT GCA GAC CTT CGG CTC TCC CGG GAG CAC
Glu Asn Glu Val Ile Ser Ser Ala Glu Leu Arg Leu Phe Arg Glu Gln
150 155 160

750

GTG GAC CAG GGC CCT GAT TGG GAA AGC GGC TTC CAC CGT ATA AAC ATT
Val Asp Glu Gly Pro Trp Glu Arg Cys Phe His Arg Ile Asn Ile
165 170 175 180

942

TAT GAG GTT ATG AAC CCC GCA GAA GTG GTG CCT GGG CAC CTC ATC
Tyr Glu Val Met Lys Pro Ala Glu Val Val Pro Cys His Leu Ile
185 190 195

990

ACA CGA CTA CTG GAC ACC AGA CTC GTC CAC CAC AAT GTG ACA CGG TGG
Thr Arg Leu Asp Thr Arg Leu Val His Asn Val Thr Arg Trp
200 205 210

1038

GAA ACT TTT GAT GTG ACC CCT CGG GTC CTT CGG TGG ACC CGG CAG AAG
Glu Thr Asp Val Ser Pro Ala Val Leu Arg Trp Thr Arg Glu Lys
215 220 225

1086

CAG CCA AAC TAT GGG CTA CCC ATT CAC GTG ACT CAC CTC CAT CAG ACT
Gln Pro Asn Tyr Gly Leu Ala Ile Glu Val Thr His Glu Thr
230 235 240

1134

CGG ACC CAC CAG GGC CAG CAT GTC ACG ATT AGC CGA TCG TTA CCT CAA
Arg Thr His Glu Gly Glu His Val Arg Ile Ser Arg Ser Leu Pro Glu
245 250 255 260

1182

GGG AGT GGG AAT TGG GCC CAG CTC CGG CCC CTC CTG GTC ACC TTT GGC
Gly Ser Gly Asn Trp Ala Glu Leu Arg Pro Leu Leu Val Thr Phe Gly
265 270 275

1230

CAT GAT GGC CGG GGC CAT GGC TGG ACC CGA CGG CGG AGG GCC AAG CGT
His Asp Gly His Ala Leu Thr Arg Arg Arg Ala Lys Arg
280 285 290

1278

AGC CCT AAG CAT CAC TCA CAG CGG GCC AGG AAC AAG ATT AAC AAC TGC
Ser Pro Lys His His Ser Glu Arg Ala Arg Lys Lys Asn Cys
295 300 305

1326

CGG CGC CAC TCG CTC TAT GTG GAC CCT AGC GAT GTG GGC TGG AAT GAC
Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val Glu Trp Asn Asp
310 315 320

1374

TGG ATT GTG GCC CCA CGA CGC TAC CAG GCC TTC TAC TGC CAT CGG GAC
Trp Ile Val Ala Pro Phe Gly Tyr Glu Ala Phe Tyr Cys His Gly Asp
325 330 335 340

1422

TGC CCC TTT CCA CTG GCT GAC CAC CTC AAC TCA ACC AAC CAT GCC ATT
Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr Asn His Ala Ile
345 350 355

1470

GTG CAG ACC CTG GTC AAT TCT GTC AAT TCC AGT ATC CCC AAA GCC TGT
Val Glu Thr Leu Val Asn Ser Val Asn Ser Ile Pro Lys Ala Cys
360 365 370

1518

特表平7-504680 (21)

TGT GTG CCC ACT GAA CTG AGT GCC ATC TCC ATG CTG TAC CTG GAT GAG Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu Tyr Leu Asp Glu 375 380 385	1566	Ile Pro Gly Thr Ser Glu Asn Ser Ala Phe Arg Phe Leu Phe Asn Leu 130 135 140
TAT GAT AAG GTG GTA CTG AAA AAT TAT CAG CAG ATG GTA GTA GAG GGA Tyr Asp Lys Val Val Lys Asn Tyr Glu Met Val Val Glu Gly 390 395 400	1614	Ser Ser Ile Pro Glu Asn Glu Val Ile Ser Ser Ala Glu Leu Arg Leu 145 150 155 160
TGT GGG TGC CGC TGAGATCAAG CAGTCCTIGA GGATAGACAG ATATACACAC Cys Gly Cys Arg 405	1666	The Arg Glu Gln Val Asp Gln Gly Pro Asp Trp Glu Arg Gly Phe His 165 170 175
ACACACAC ACACCACATA CACCAACAC ACACGTTCCC ATCCACTCAC CCACACACTA CACACACTGC TTCCCTATAG CTGGACTTTT ATTAAAAAAA AAAAAAAA AAACCCGAAAT TC	1726 1786 1788	Arg Ile Asn Ile Tyr Glu Val Met Lys Pro Pro Ala Glu Val Val Pro 180 185 190
(2)配列番号：19の情報：		Gly His Leu Ile Thr Arg Leu Leu Asp Thr Arg Leu Val His His Asn 195 200 205
(i)配列の特徴： (A)長さ：408アミノ酸 (B)型：アミノ酸 (D)トポロジー：直鎖状		Val Thr Arg Trp Glu Thr Phe Asp Val Ser Pro Ala Val Leu Arg Trp 210 215 220
(ii)配列の種類：タンパク質		Thr Arg Glu Lys Gln Pro Asn Tyr Gly Leu Ala Ile Glu Val Thr His 225 230 235 240
(xi)配列：配列番号：19：		Leu His Gln Thr Arg Thr His Gln Gly Gln His Val Arg Ile Ser Arg 245 250 255
Met Ile Pro Gly Asn Arg Met Leu Met Val Val Leu Leu Cys Gln Val 1 5 10 15		Ser Leu Pro Gln Gly Ser Gly Asn Trp Ala Gln Leu Arg Pro Leu Leu 260 265 270
Leu Leu Gly Gly Ala Ser His Ala Ser Leu Ile Pro Glu Thr Gly Lys 20 25 30		Val Thr Phe Gly His Asp Gly Arg Gly His Ala Leu Thr Arg Arg Arg 275 280 285
Lys Lys Val Ala Glu Ile Gln Gly His Ala Gly-Gly Arg Ser Gly 35 40 45		Arg Ala Lys Arg Ser Pro Lys His His Ser Gln Arg Ala Arg Lys Lys 290 295 300
Gln Ser His Glu Leu Leu Arg Asp Phe Glu Ala Thr Leu Leu Gln Met 50 55 60		Asn Lys Asn Cys Arg Arg His Ser Leu Tyr Val Asp Phe Ser Asp Val 305 310 315 320
Phe Gly Leu Arg Arg Pro Gln Pro Ser Lys Ser Ala Val Ile Pro 65 70 75 80		Gly Trp Asn Asp Trp Ile Val Ala Pro Pro Gly Tyr Gln Ala Phe Tyr 325 330 335
Asp Tyr Met Arg Asp Leu Tyr Arg Leu Gln Ser Gly Glu Glu Glu 85 90 95		Cys His Gly Asp Cys Pro Phe Pro Leu Ala Asp His Leu Asn Ser Thr 340 345 350
Glu Gln Ile His Ser Thr Gly Leu Glu Tyr Pro Glu Arg Pro Ala Ser 100 105 110		Asn His Ala Ile Val Gln Thr Leu Val Asp Ser Val Asn Ser Ser Ile 355 360 365
Arg Ala Asn Thr Val Arg Ser Phe His His Glu Glu His Leu Glu Asn 115 120 125		Pro Lys Ala Cys Cys Val Pro Thr Glu Leu Ser Ala Ile Ser Met Leu 370 375 380
		Tyr Leu Asp Glu Tyr Asp Lys Val Val Leu Lys Asn Tyr Gln Glu Met 385 390 395 400

Val Val Glu Gly Cys Gly Cys Arg
405

(2)配列番号：20の情報：

- (i)配列の特徴：
(A)長さ：102アミノ酸
(B)型：アミノ酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(vi)起源：
(A)生物名：ヒト

(ix)配列の特徴：
(A)特徴を表す記号：Protein
(B)位置：1..102
(D)他の情報：／注記＝「BMP5」

(xi)配列：配列番号：20：

Cys Lys Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Arg Asp Leu Gly Trp Gln
1 5 10 15
Asp Trp Ile Ile Ala Pro Glu Gly Tyr Ala Ala Phe Tyr Cys Asp Gly
20 25 30
Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala
35 40 45
Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Met Phe Pro Asp His Val Pro Lys
50 55 60
Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe
65 70 75 80
Asp Asp Ser Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Asn Met Val Val
85 90 95
Arg Ser Cys Gly Cys His
100

(2)配列番号：21の情報：

- (i)配列の特徴：
(A)長さ：102アミノ酸
(B)型：アミノ酸
(C)鎖の数：一本鎖
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(vi)起源：
(A)生物名：ヒト

(ix)配列の特徴：
(A)特徴を表す記号：Protein
(B)位置：1..102
(D)他の情報：／注記＝「BMP5」

(xi)配列：配列番号：21：

Cys Arg Lys His Glu Leu Tyr Val Ser Phe Gln Asp Leu Gly Trp Gln
1 5 10 15
Asp Trp Ile Ile Ala Pro Lys Gly Tyr Ala Ala Asn Tyr Cys Asp Gly
20 25 30
Glu Cys Ser Phe Pro Leu Asn Ala His Met Asn Ala Thr Asn His Ala
35 40 45
Ile Val Gln Thr Leu Val His Leu Met Asn Pro Glu Tyr Val Pro Lys
50 55 60
Pro Cys Cys Ala Pro Thr Lys Leu Asn Ala Ile Ser Val Leu Tyr Phe
65 70 75 80
Asp Asp Asn Ser Asn Val Ile Leu Lys Lys Tyr Arg Trp Met Val Val
85 90 95
Arg Ala Cys Gly Cys His
100

(2)配列番号：22の情報：

- (i)配列の特徴：
(A)長さ：102アミノ酸
(B)型：アミノ酸
(D)トポロジー：直鎖状

(ii)配列の種類：タンパク質

(ix)配列の特徴：
(A)特徴を表す記号：Protein (タンパク質)
(B)位置：1..102
(D)他の情報：／ラベル＝OPX
／注記＝「ここで、各位置のXaaは、マウスまたはヒトのOP1または
OP2のC末端配列中の対応する位置に存在する残基から独立して選
択される（配列番号1、8、10、および12を参照のこと。）」

(xi)配列：配列番号：22：

Cys Iaa Iaa His Glu Leu Tyr Val Iaa Phe Iaa Asp Leu Gly Trp Iaa
 5 10 15

Asp Trp Iaa Ile Ala Pro Iaa Gly Tyr Iaa Ala Tyr Tyr Cys Glu Gly
 20 25 30

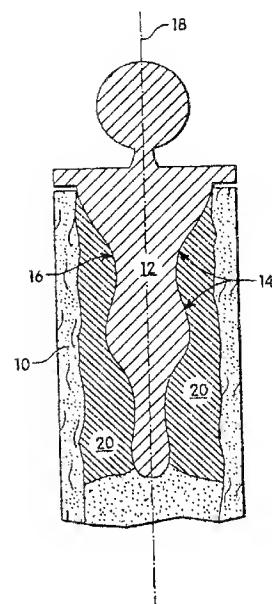
Glu Cys Iaa Phe Pro Leu Iaa Ser Iaa Met Asn Ala Thr Asn His Ala
 35 40 45

Ile Iaa Gln Iaa Leu Val His Iaa Iaa Pro Iaa Iaa Val Pro Lys
 50 55 60

Iaa Cys Cys Ala Pro Thr Iaa Leu Iaa Ala Iaa Ser Val Leu Tyr Iaa
 65 70 75 80

Asp Iaa Ser Iaa Asn Val Iaa Leu Iaa Lys Iaa Arg Asn Met Val Val
 85 90 95

Iaa Ala Cys Gly Cys His
 100

補正書の写し（翻訳文）提出書（特許法第184条の8）明細書増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

平成6年12月16日

特許庁長官殿

1. 特許出願の表示

PCT/US93/05446

2. 発明の名称

増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

3. 特許出願人

住所 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01760-0053,
 ネイティック、ウスター ロード 594、スイート 201,
 ワン アップル ヒル
 名称 ストライカー コーポレーション

4. 代理人

住所 〒540 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号
 クリスタルタワー15階
 氏名 (7828) 弁理士 山本 秀策
 電話 (大阪) 06-949-3910

5. 補正書の提出年月日

1994年4月28日

6.添付書類の目録

(1) 補正書の写し（翻訳文）

1通

関連出願の参照

本出願は、1992年2月21日に出願された係属中の米国特許出願第07/841,646号（現在は米国特許第5,266,683号）の一部継続出願である。この一部継続出願は、以下の米国特許出願の一部継続出願である：1) 1992年1月28日に出願された第07/827,052号（現在は米国特許第5,250,302号）、これは1988年4月8日に出願された米国特許出願第07/179,406号（現在は米国特許第4,968,590号）の分割出願である；2) 1990年9月7日に出願された第07/579,865号、これは米国特許出願第07/179,406号の分割出願である；3) 1990年12月4日に出願された第07/621,849号、1988年8月15日に出願された米国特許出願第07/232,630号（現在は放棄）の分割出願であり、後者の出願は第07/179,406号の一部継続出願であった；4) 1990年12月4日に出願された第07/621,988号、これは1989年2月23日に出願された米国特許出願第07/315,342号（現在は米国特許第5,011,691号）の分割出願であり、第07/232,630号の一部継続出願である；5) 1991年12月20日に出願された第07/810,560号、これは1991年2月22日に出願された米国特許出願第07/660,162号（現在は放棄）の継続出願であり、この第07/660,162号は1989年10月17日に出願された第07/422,699号（現在は放棄）の一部継続出願であった（第07/422,699号は

特表平7-504680 (23)

第07/315,342号の一部継続出願であった) ; 6) 1990年8月20日に出願された第07/569,920号(現在は放棄)、これは第07/422,699号および第07/483,913号(後者は1989年10月17日に出願された第07/422,613号(現在は米国特許第4,975,526号)の一部継続出願および第07/315,342号の一部継続出願である)の一部継続出願であった; 7) 1990年10月18日に出願された第07/600,024号、これは第07/569,920号の一部継続出願である; 8) 1990年10月18日に出願された第07/599,543号、これは第07/569,920号の一部継続出願である; 9) 1990年11月21日に出願された第07/616,374号、これは第07/422,613号の分割出願である; および10) 1990年2月22日に出願された第07/483,913号。

(以下余白)

組換え生産骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む、哺乳類での軟骨内骨形成を誘導し得るダイマータンパク質の類を示し、各ポリペプチド鎖は、生合成構築物、すなわちCOP-5またはCOP-7(配列番号3および4)の配列に十分に重複したアミノ酸配列を有し、その結果、このポリペプチド鎖対は、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合されたとき、哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し得る。本明細書中で定義されるように、「十分に重複した」とは、マトリックスに関するして哺乳類に移植したダイマータンパク質として軟骨内骨活性を有するタンパク質の類を示すことは理解される。各サブユニットは、C末端のシステインに富む領域中で、OPsの配列(335残基から431残基まで、配列番号1)と少なくとも60%のアミノ酸配列同様性を有する。「同様性」とは、アミノ酸配列が同一であること、またはその配列との同類アミノ酸置換が生じていること(*Dayoff*ら、*Atlas of Protein Sequence and Structure*: 第5巻、第3号、345~362頁、(M.O. Dayoff編、Nat'l Biomed. Research Fdn., Washington, D.C., 1979)により定義される)と、本明細書中で定義される。有用な配列は、以下のタンパク質のC末端を含む配列である:DPP(ショウジョウバエ由来)、Vg1(アフリカツメガエル由来)、Vgr-1(マウス由来)、OP1およびOP2タンパク質、CBMP2、CBMP3、およびCBMP4タンパク質(米国特許第5,011,691号、および米国特許第5,266,683号を参照のこと、これら両方の開示内容は本明細書中に参考として援用されている)、

ならびに8WP5および8WP6と称されるタンパク質(WO90/11366、PCT/US90/01630)。これらのタンパク質の多くはまたWO88/02025、米国特許第5,013,649号、およびWO91/18098に記載されている。表1に、これら骨形成タンパク質ファミリーの好ましいメンバーを挙げる。

表1-骨形成タンパク質配列

hOP1 - ヒトOP1タンパク質をコードするDNA配列(配列番号1または3)。関連出願では「OP1」、「hOP-1」、および「OP-1」とも称されている。

(以下余白)

1つの局面では、補綴物は、該補綴物を支えるように調製された開口部に挿入されるように形成されるデバイスを含む。この実施態様では、図に示すように、骨の内部(10)を、インプラント(12)の挿入のための準備としてくり抜く。このインプラントは、複数のくぼみ(16)を規定する不規則輪郭の表面デザイン(14)を有し、このためくぼみへの骨の内方成長が可能になる。このくぼみは、好ましくは、インプラントの縦軸(18)に対して垂直方向にある。開口部に挿入される不規則輪郭部分は、上記のように骨形成タンパク質でコーティングされ得る。マトリックス材(20)と組み合わされる骨形成タンパク質を、補綴インプラントと共に開口部に充填し、それによりインプラントを取り囲む骨形成タンパク質により刺激されて、上記のように、新たな骨がくぼみ(16)中に成長し、インプラント(12)の表面および既に存在する骨(10)と統合する。従って、上記補綴物は、適切な位置で機械的および生物学的に固定され、骨に関連するインプラントの軸の動きは、骨組織の剪断を必要とするようになる。骨の成長および固定を増強する補綴物のコーティングのためのマトリックス材(20)は、上記の材料のいずれかであり得る。例えば、コラーゲン、ヒドロキシアパタイト、グリコール酸、乳酸、および酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属(例えば、酸化チタン)、および脱塩シグアニジン抽出した骨が挙げられる。本発明の実施態様で用いられ得る骨形成タンパク

請求の範囲

質との使用のためのマトリックス材は、例えば、米国特許第5,011,691号、および米国特許第5,266,683号に記載の材料であり、これらの教示内容は、これにより本明細書中に参考として援用される。

図に示される補綴物は、最後に補綴物の一部が骨組織にはめ込まれるべき場所への、歯科用インプラントおよび他のインプラント特に有用である。開口部（例えば歯槽）の「骨形成デバイス」（例えばマトリックス材と組み合わせた骨形成タンパク質）での充填は、このデバイスが本来の骨に貫通される必要がなく、補綴物をはめ込む場所に堅い材料を提供する。

配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有する。

3. 前記補綴デバイス表面が、ヒドロキシアバタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、またはそれらの組み合わせをさらに含む、請求項1または2に記載の使用。

4. 前記補綴デバイスが、有孔性の金属材料を含む、請求項1または2に記載の使用。

5. 前記ダイマー種骨形成タンパク質が宿主細胞における組換えDNAの発現により生産され、そしてそこから単離される、請求項1または2に記載の使用。

6. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性を有するダイマー種タンパク質であり、以下でさらに特徴づけられる、請求項1または2に記載の使用：

1. 補綴デバイスの表面上での実質的に純粋な骨形成タンパク質の、哺乳類の特定の部位での移植における該デバイスのインビボでの骨統合を促進するための使用であって、該部位で、骨組織と該表面とは、該組織と該デバイスとの間で骨組織の成長を増強させるのに充分な時間、少なくとも部分的に接觸されて維持される使用：

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む塩基性タンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有する。

2. 移植前の補綴デバイス表面上での実質的に純粋な骨形成タンパク質の、哺乳類の骨格系を修復するための使用であって、それにより該デバイスへの骨組織の成長の増強を促進し、そして骨と該デバイスとの間の接合部の引っ張り強度を改良する使用：

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む塩基性タンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、

該タンパク質が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合された1対の酸化サブユニットを含み、該サブユニットの一方が、ストリンジェントなハイブリダイゼーション条件下でOPS(配列番号1の335残基から431残基)をコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を有し、該サブユニットを含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類で軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有する。

7. 前記ダイマー種骨形成タンパク質がグリコシリ化されていない、請求項5に記載の使用。

8. 前記タンパク質の各ポリペプチド鎖が、OPSを含むアミノ酸配列と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項1または2に記載の使用。

9. 前記ポリペプチド鎖の一方のアミノ酸配列が、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項8に記載の使用。

10. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項8に記載の使用。

特表平7-504680 (25)

1 1. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号 1 の 318 残基から 431 残基のアミノ酸配列(OPI-16Val) を含む、請求項 1 0 に記載の使用。

1 2. 骨組織に近接した移植のための有孔または無孔の表面領域を有する堅い補綴インプラントを含む、哺乳類の骨の欠損、損傷、または異常を修復するための補綴デバイスであって、以下を含むデバイス：

該表面への骨組織の成長の増強を促進するのに充分な量で、該表面領域に配置された実質的に純粋な骨形成に活性な骨形成タンパク質；

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む塩基性タンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号 1 の 335 残基から 431 残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と 60% より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有する。

1 3. 前記補綴デバイス表面が、さらにヒドロキシアバタイトを含む、請求項 1 2 に記載のデバイス。

1 4. 前記ダイマー種骨形成タンパク質が、宿主細胞にお

5 残基から 431 残基により規定されるアミノ酸配列(OPI) を含む、請求項 1 7 に記載のデバイス。

2 0. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号 1 の 318 残基から 431 残基により規定されるアミノ酸配列(OPI-16Val) を含む、請求項 1 9 に記載のデバイス。

2 1. 前記補綴物が、有孔性の金属材料を含む、請求項 1 2 に記載のデバイス。

2 2. 前記補綴物が、その縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する、開口部への挿入のための移植可能な不規則輪郭部分を含有する、請求項 1 2 に記載のデバイス。

2 3. 歯科用インプラントを含む、請求項 2 2 に記載のデバイス。

2 4. 移植可能な不規則輪郭部分を含有する補綴デバイスの、骨の開口部中での該補綴デバイスのインピボでの骨統合を促進するための使用であって、該不規則輪郭部分はその縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有し、ここで、該補綴デバイスの該不規則輪郭部分は、マトリックス材と組み合わせた実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む骨成長組成物でコーティングされており、ここで、該組成物は、該くぼみでの骨の

いて組換えDNAにより生産され、そしてそこから単離される、請求項 1 2 に記載のデバイス。

1 5. 前記ダイマー種骨形成タンパク質がグリコシル化されていない、請求項 1 4 に記載のデバイス。

1 6. 前記ポリペプチド鎖の一方が、OPS(配列番号 1 の 335 残基から 431 残基)をコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖を含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有する、請求項 1 2 に記載のデバイス。

1 7. 前記タンパク質の各ポリペプチド鎖が、配列番号 1 の 335 残基から 431 残基(OPS)を含むアミノ酸配列と 65% より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項 1 2 に記載のデバイス。

1 8. 前記タンパク質のポリペプチド鎖の一方が、配列番号 1 の 335 残基から 431 残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項 1 7 に記載のデバイス。

1 9. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号 1 の 33

成長、該骨と該補綴デバイスとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、使用：

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含む塩基性タンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号 1 の 335 残基から 431 残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と 60% より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有する。

2 5. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項 2 4 に記載の使用。

2 6. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項 2 5 に記載の使用。

2 7. 骨の開口部中での補綴物のインピボでの骨統合を促進するためのデバイスであって、以下を含むデバイス：

該開口部への挿入のための不規則輪郭部分を有する堅い補綴インプラントであって、該不規則輪郭部分は、その縦軸に垂直方向に複数のくぼみを有する、インプラント；およびマトリックス材と組み合わせて実質的に純粋な骨形成タン

パク質を含む骨成長組成物であって、該組成物は、該くぼみでの骨の成長、該骨と該補綴インプラントとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、組成物：

ここで、該骨形成タンパク質は、塩基性のダイマー種タンパク質であり、そして1対のポリペプチド鎖を含み、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有する。

28. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項27に記載のデバイス。

29. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項28に記載のデバイス。

30. 前記マトリックス材が、ヒドロキシアバタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のポリマーまたはコポリマー、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、脱塩され、グアニジン抽出された骨、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項2

7に記載のデバイス。

31. 牙科用インプラントを含む、請求項27に記載のデバイス。

32. 前記タンパク質が、宿主細胞において組換えDNAにより生産され、そしてそこから単離される、請求項24または27に記載のデバイス。

33. 前記タンパク質がグリコシル化されていない、請求項34に記載のデバイス。

手続補正書

請求の範囲

特許庁長官殿

平成7年1月27日



1. 事件の表示

PCT/US93/05446

2. 発明の名称

増強された骨形成特性を有する補綴デバイス

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

住所 アメリカ合衆国 マサチューセッツ 01760-0053,
ネイティック、ウスター ロード 594, スイート 201,
ワシ アップル ヒル

名称 ストライカー コーポレイション

4. 代理人

住所 テ540 大阪府大阪市中央区城見一丁目2番27号

クリスタルタワー15階

氏名 (7828) 弁理士 山本 秀策

電話 (大阪) 06-5446-3910

5. 補正の対象

請求の範囲

6. 補正の内容

請求の範囲を別紙のとおりにする。



1. 実質的に純粋な骨形成タンパク質を含有する、哺乳類の特定の部位での移植における種々デバイスのインビボでの骨統合を促進するためには該デバイスの表面をコーティングするための試薬であって、該部位で、骨組織と該表面とは、該組織と該デバイスとの間で骨組織の成長を増強させるのに充分な時間、少なくとも部分的に接触されて維持される、試薬：

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含むタンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有する。

2. 実質的に純粋な骨形成タンパク質を含有する、哺乳類の骨格系を修復するために移植前の種々デバイスの表面をコーティングするための試薬であって、それにより該デバイスへの骨組織の成長の増強を促進し、そして骨と該デバイスとの間の接合部の引っ張り強度を改良する、試薬：

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含むタンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホーメーションを有する。

3. 前記種々デバイス表面が、ヒドロキシアバタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のホモポリマーまたはコポリマーおよびそれらの誘導体、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、またはそれらの組み合わせをさらに含む、請求項1または2に記載の試薬。

特表平7-504680 (27)

4. 前記構成デバイスが、有孔性の金属材料を含む、請求項1または2に記載の試薬。

5. 前記ダイマー種骨形成タンパク質が宿主細胞における組換えDNAの発現により生産され、そしてそこから単離される、請求項1または2に記載の試薬。

6. 前記骨形成タンパク質が、宿主細胞における組換えDNAの発現により生産される骨形成活性を有するダイマー種タンパク質であり、以下でさらに特徴づけられる、請求項1または2に記載の試薬：

該タンパク質が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合された1対の酸化サブユニットを含み、該サブユニットの一方が、ストリンジメントなハイブリダイゼーション条件下で、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるOPSをコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を有し、該サブユニットを含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類で軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

7. 前記ダイマー種骨形成タンパク質がグリコシル化されていない、請求項5に記載の試薬。

8. 前記タンパク質の各ポリペプチド鎖が、OPSを含むアミノ酸配列と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項1または2に記載の試薬。

9. 前記ポリペプチド鎖の一方のアミノ酸配列が、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項8に記載の試薬。

10. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項8に記載の試薬。

得るコンホメーションを有する、請求項12に記載のデバイス。

11. 前記タンパク質の各ポリペプチド鎖が、配列番号1の335残基から431残基を含むアミノ酸配列(OPS)と65%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含む、請求項12に記載のデバイス。

12. 前記タンパク質のポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項17に記載のデバイス。

13. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の335残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPS)を含む、請求項17に記載のデバイス。

14. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の318残基から431残基により規定されるアミノ酸配列(OPI-16Val)を含む、請求項19に記載のデバイス。

15. 前記構成インプラントが、有孔性の金属材料を含む、請求項12に記載のデバイス。

16. 前記構成インプラントが、その縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する、開口部への挿入のための移植可能な不規則輪郭部分を含有する、請求項12に記載のデバイス。

17. 歯科用インプラントを含む、請求項22に記載のデバイス。

18. 移植可能な不規則輪郭部分を含有する構成デバイスであって、骨の開口部中の該構成デバイスのインピボでの骨統合を促進するためのデバイスを調製する方法であって、以下の工程を包含する、方法：

a) その縦軸に垂直方向で複数のくぼみを有する不規則輪郭部分を有する堅い

11. 前記ポリペプチド鎖のいずれもが、配列番号1の318残基から431残基のアミノ酸配列(OPI-16Val)を含む、請求項10に記載の試薬。

12. 骨組織に近接した移植のための有孔または無孔の表面領域を有する堅い補綴インプラントを含む、哺乳類の骨の欠損、損傷、または異常を修復するための補綴デバイスであって、以下を含むデバイス：

該表面への骨組織の成長の増強を促進するのに充分な量で、該表面領域に配置された実質的に純粋な骨形成に活性な骨形成タンパク質；

ここで、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含むタンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

13. 前記構成デバイス表面が、さらにヒドロキシアバタイトを含む、請求項12に記載のデバイス。

14. 前記ダイマー種骨形成タンパク質が、宿主細胞において組換えDNAにより生産され、そしてそこから単離される、請求項12に記載のデバイス。

15. 前記ダイマー種骨形成タンパク質がグリコシル化されていない、請求項14に記載のデバイス。

16. 前記ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるOPSをコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖を含むジスルフィド結合ダイマー種が、前記デバイスの表面に配置されるとき哺乳類において軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

植骨インプラントを提供する工程：および

b) マトリックス材と組み合わせた実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む骨成長組成物で該部をコーティングする工程：

ここで、該組成物は、該くぼみでの骨の成長、該骨と該構成デバイスとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導し、該骨形成タンパク質は、1対のポリペプチド鎖を含むタンパク質であり、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

17. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項24に記載の方法。

18. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強するために、前記孔内に配置され、請求項25に記載の方法。

19. 骨の開口部中の該構成デバイスのインピボでの骨統合を促進するためのデバイスであって、以下を含むデバイス：

該開口部への挿入のための不規則輪郭部分を有する堅い補綴インプラントであって、該不規則輪郭部分は、その縦軸に垂直方向に複数のくぼみを有する、インプラント；および

マトリックス材と組み合わせて実質的に純粋な骨形成タンパク質を含む骨成長組成物であって、該組成物は、該くぼみでの骨の成長、該骨と該構成インプラントとの間の骨統合、および該組成物および該骨により誘導される新規な骨の骨統合を誘導する、組成物：

ここで、該骨形成タンパク質は、ダイマー種タンパク質であり、そして1対のポリペプチド鎖を含み、該ポリペプチド鎖の一方が、配列番号1の335残基から431残基までにより規定されるOPSをコードする核酸にハイブリダイズし得る核酸によりコードされたアミノ酸配列を含み、該ポリペプチド鎖対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

特表平7-504680 (28)

31残基までにより規定されるアミノ酸配列(OPS)と60%より大きい同一性を有するアミノ酸配列を含み、該ボリペプチド競対が、ダイマー種を生成するようにジスルフィド結合され、マトリックスに配置されて、哺乳類に移植されるときに軟骨内骨形成を誘導し得るコンホメーションを有する。

28. 前記不規則輪郭部分が、有孔性の金属材料を含む、請求項27に記載のデバイス。

29. 前記骨形成タンパク質が、前記孔への骨の内方成長を増強する、請求項28に記載のデバイス。

30. 前記マトリックス材が、ヒドロキシアバタイト、コラーゲン、グリコール酸、乳酸、または酪酸のポリマーまたはコポリマー、リン酸三カルシウムまたは他のリン酸カルシウム、酸化金属、脱塩され、グアニジン抽出された骨、およびそれらの組み合わせからなる群から選択される、請求項27に記載のデバイス。

31. 歯科用インプラントを含む、請求項27に記載のデバイス。

32. 前記タンパク質が、宿主細胞において組換えDNAにより生産され、そしてそこから単離される、請求項27に記載のデバイス。

33. 前記タンパク質がグリコシリ化されていない、請求項32に記載のデバイス。

International Application No. PCT/US 93/05468		
3. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT COUNTRIES USED FROM THE SECOND SEARCH		
Category	Claims of Document, its definition, where appropriate, of the relevant passages ⁽¹⁾	Reference to Claim No.
Y	WO,A,8 800 205 (GENETICS INSTITUTE) 14 January 1988 cited in the application see page 9, line 1 - line 2; claims 1,2,7	13,14,23
Y	EP,A,0 361 896 (COLLAGEN CORPORATION) 4 April 1990 see column 5, lines 28 - line 53 see column 7, line 19 - line 26; claims 1,3-7,16,19	15-22, 24-25, 29-34
X	EP,A,0 182 483 (COLLAGEN CORPORATION) 28 May 1986 see page 13, line 12 - line 19 see page 5, line 1 - line 3; claims 1,3,7	30-32
X	EP,A,0 182 483 (COLLAGEN CORPORATION) 28 May 1986 see page 13, line 12 - line 19 see page 5, line 1 - line 3; claims 1,3,7	13,14,23
⁽¹⁾ Special treatment of cited documents: "A" document defining the general state of the art which is not material for the examination of the application; "C" earlier document has published no or after the International Filing Date; "D" document which very closely overlaps on priority claim(s) or which it clearly establishes the publication date of another claim(s); "E" document referring to a prior document, see, combination or other means; "F" document published prior to the International Filing Date but later than the priority date claimed; "G" document member of the same patent family		
IV. CERTIFICATION		International Search Report Date of the Actual Completion of the International Search 14 OCTOBER 1993
		Date of Making of the International Search Report 28.10.93
International Searching Authority EUROPEAN PATENT OFFICE		Signature of International Authority PELTRE CHR.

Form PCT/ISA/210 (continuation of Test sheet (1)) (July 1992)

International Application No. PCT/US 93/05446		
3. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT COUNTRIES USED FROM THE SECOND SEARCH		
Category	Claims of Document, its definition, where appropriate, of the relevant passages ⁽¹⁾	Reference to Claim No.
Y	WO,A,9 105 802 (CREATIVE BIOMOLECULES) 2 May 1991 cited in the application see page 69 - page 70 see page 3, line 1 - line 3	15-22,34
Y	EP,A,0 106 946 (SULZER) 2 May 1984 see figura 3	24,29
Y	DE,A,2 534 593 (LUKESCH F.) 26 February 1976 see claim 1; figure 1	24,25, 29,33
A	EP,A,0 470 305 (OSTEOTECH) 12 February 1992	-----
A	EP,A,0 413 492 (OSTEOTECH) 20 February 1991	-----

International Application No. PCT/US 93/05446	
Box I Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of Item 1 of first sheet)	
The international search report has not been established in respect of certain claims under Article 19(3)(x) for the following reasons:	
<input checked="" type="checkbox"/>	Claims Not: because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely: Remark: Although claims 1-12,26-28 are directed to a method of treatment of (diagnostic method practised on) the human/animal body the search has been carried out and based on the alleged effects of the compound.
<input type="checkbox"/>	Claims Not: because they are part of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
<input type="checkbox"/>	Claims Not: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentence of Rule 6(4)(x)
Box II Observations where unity of invention is lacking (Continuation of Item 2 of first sheet)	
This international searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:	
<input type="checkbox"/>	All required additional search fees were directly paid by the applicant. This international search report covers all searchable claims.
<input type="checkbox"/>	As all searchable claims could be searched without effecting an additional fee, this Authority did not invoice payment of any additional fee.
<input type="checkbox"/>	As only some of the required additional search fees were directly paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims (s).
<input type="checkbox"/>	No required additional search fees were directly paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claim(s) (s).
Comments on Payment	
<input type="checkbox"/> The additional search fees were accompanied by the applicant's present.	
<input type="checkbox"/> No present accompaniment the payment of additional search fees.	

Form PCT/ISA/210 (continuation of Test sheet (1)) (July 1992)

国際調査報告

US 9305446
SA 76365

This annex lists the patent family members relating to the quoted documents cited in the above-mentioned international search report.
 The numbers are as contained in the European Patent Office EPO file as
 The European Patent Office is in no way liable for those particulars which are merely given for the purpose of information. 14/10/93

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO-A-8800205	14-01-88	US-A- 4877864 AU-B- 613314 AU-A- 7783587 EP-A- 0313578 JP-T- 2500241 US-A- 5013649 US-A- 5186058 US-A- 5186076 US-A- 5116738 US-A- 5106748 US-A- 5108922 US-A- 5141905	31-10-89 01-08-91 29-01-88 03-05-89 01-02-90 07-05-91 22-02-92 16-02-93 26-05-92 21-04-92 28-04-92 25-08-92
EP-A-0361896	04-04-90	US-A- 5108436 AU-B- 628083 AU-A- 4233889 JP-A- 2218372 US-A- 5207710	28-04-92 10-09-92 05-04-90 31-08-90 04-05-93
EP-A-0182483	28-05-86	US-A- 4563350 AU-B- 580166 AU-A- 4900585 CA-A- 1266613 EP-A- 0448704 JP-T- 4502336 US-A- 5001169	07-01-86 15-02-86 01-05-86 13-03-90 24-01-87 19-12-89 19-03-91
WO-A-9105802	02-05-91	US-A- 5171574 AU-A- 6648190 CA-A- 2042577 EP-A- 0448704 JP-T- 4502336 CA-A- 2027259	15-12-92 16-05-91 18-04-91 02-10-91 23-04-92 18-04-91
EP-A-0106946	02-05-84	CH-A- 657266	29-08-86
DE-A-2534593	26-02-76	AT-A- 349129 AU-A- 6389175 CH-A- 603147 JP-C- 985878	26-03-79 17-02-77 15-08-78 07-02-80

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/83

国際調査報告

US 9305446
SA 76365

This annex lists the patent family members relating to the quoted documents cited in the above-mentioned international search report.
 The numbers are as contained in the European Patent Office EPO file as
 The European Patent Office is in no way liable for those particulars which are merely given for the purpose of information. 14/10/93
 Page 2

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
DE-A-2534593		JP-A- 51041293 JP-B- 54019118 US-A- 3991472	07-04-76 12-07-79 16-11-76
EP-A-0470305	12-02-92	None	
EP-A-0413492	20-02-91	US-A- 5061286 JP-A- 3178665	29-10-91 02-08-91

For more details about this annex : see Official Journal of the European Patent Office, No. 12/83

フロントページの続き

(72) 発明者 クブラサムバス, サンガブル
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ
 02053, メドウェイ, スプリング ストリート 6

(72) 発明者 オッパーマン, ハーマン
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ
 02053, メドウェイ, サマー ヒル ロード 25

(72) 発明者 オズケイナク, エグニン
 アメリカ合衆国 マサチューセッツ
 01757, ミルフォード, バデュー ドライブ, 44